



Pengaruh Pemberian Infusa Seledri (*Apium Graveolens*) Terhadap Efek Diuresis Mencit (*Mus Musculus L.*) Dengan Metode Experimental Murni

Ida Ayu Mas Laksmi Dewi¹, Luh Pande Putu Tirta¹, Ni Kadek Ayu Pramesti¹, Desak Putu Putri Satriyani¹, Luh Vela Septyani¹, Ni Putu Wahyudewi Primananda¹, Ni Made Ari Girnasih¹, Ni Luh Santiyani¹, Ni Putu Ayu Dewi Wijayanti²

¹Mahasiswa Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Unud

²Dosen Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Unud

INFORMASI ARTIKEL

Riwayat Artikel:

Diterima:

2 Januari 2019

Diterima dalam bentuk revisi:

18 Februari 2019

Disetujui:

23 Februari 2019

ISSN:2086-1354

Kata kunci:

Infusa seledri,
mencit,
dosis,
efek diuresis

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN INFUSA SELEDRI (*APIUM GRAVEOLENS*) TERHADAP EFEK DIURESIS MENCIT (*MUS MUSCULUS L.*) DENGAN METODE EKSPERIMENTAL MURNI.

Pengujian pemberian infusa seledri (*Apium Graveolens*) yang dilakukan pada mencit untuk mengetahui efek diuresis mencit (*Mus Musculus L.*) dengan metode eksperimental murni. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui prinsip dan etika penelitian dengan menggunakan hewan coba mencit (*Mus Musculus L.*), mengetahui efektivitas infusa seledri sebagai diuretik dengan tiga variasi dosis yaitu pemberian 50%, 100%, 150%, mengetahui dosis infusa seledri yang memiliki efek paling kuat sebagai diuretik dibandingkan dengan kontrol positif. Eksperimental ini menggunakan rancangan acak lengkap pola searah. Variabel kontrol dibedakan mejadi kontrol positif yaitu hewan uji yang diberikan infusa seledri dan kontrol negatif yaitu hewan uji yang tidak diberikan obat herbal (Infusa Seledri) melainkan diberikan akuades. Variabel bebas adalah dosis obat herbal (Infusa Seledri) yang diberikan. Variabel terikat adalah volume, pH, warna urin, dan waktu onset yang dihasilkan hewan uji (mencit). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kurva hubungan antara dosis infusa seledri yang diberikan dengan volume urin yang dihasilkan mencit pada perlakuan minggu pertama hingga minggu ketiga diketahui bahwa volume urin pada minggu kedua merupakan volume urin rata-rata yang terbesar diantara perlakuan pada minggu ke I, II dan III. Konsentrasi 100% (pada minggu ke-II) mampu memberikan efek diuresis yang maksimal, konsentrasi 50% (pada minggu ke-I) memberikan efek diuresis lebih rendah dibandingkan perlakuan minggu ke-I, sedangkan dengan penambahan konsentrasi menjadi 150% (pada minggu ke-III) menunjukkan adanya efek diuresis namun lebih rendah daripada dengan perlakuan pada minggu ke-II dengan pemberian dosis 100%. Berdasarkan hal di atas menunjukkan bahwa efek maksimal dari daun seledri pada penelitian ini ada pada konsentrasi 100%, dibuktikan dengan meningkatnya konsentrasi terjadi penurunan efek diuresis.

ABSTRACT

THE INFLUENCES OF CELERY INFUSION (*APIUM GRAVEOLENS*) TO DIURETIC EFFECT OF MICE (*MUS MUSCULUS L.*) USING PRE EXPERIMENTAL METHOD.

Testing of infusion of celery (*Apium Graveolens*) conducted on mice to study the effect of diuresis of mice (*Mus Musculus L.*) with pure experimental methods. Evaluation of celery infusion as a diuretic with three dosage variations; 50%, 100%, 150%, look for celery infusion dose which has the strongest effect as a diuretic compared to the positive control. This experimental design uses a randomized complete unidirectional pattern. The control variable was differentiated into a positive control that is a test animal given celery infusion and negative control that is a test animal that was not given herbal medicine (*Celery Infusion*) given distilled water. The independent variable is the dose of herbal medicine (*Celery Infusion*) given. The variables taken are volume, pH, colour of urine, and the onset time produced by test animals (mice). The results showed that the formula of the relationship between the infusion dose of celery given with the urine volume produced by mice in the first week to the third week confirmed the urine volume in the second week was the largest average urine volume between the treatments in weeks I, II and III. Concentration of 100% (at week II) is able to provide maximum diuresis effect, concentration of 50% (at week I) gives a lower diuresis effect compared to setting week I, whereas with an increase in contribution reaching 150% (at week the -III) shows the effect is 100% lower than the low dose. Based on the above, it shows the maximum effect of celery leaves in this study at 100%, evidenced by the concentration resulting from a decrease in the diuresis effect.

Keywords: celery infusion, mice, dosage, diuresis effect.

© 2021 I P T E K M A.

1. PENDAHULUAN

Proses pengujian suatu obat dapat dilakukan melalui uji praklinik dan uji klinik. Uji praklinik dalam farmakologi merupakan suatu proses uji yang dilaksanakan pada hewan coba dan atau pada bahan biologi lainnya untuk membuktikan kebenaran khasiat dan keamanan secara ilmiah suatu bahan yang sebelumnya diduga memiliki khasiat obat atau terhadap bahan obat yang telah beredar di masyarakat [1]. Hewan percobaan merupakan hewan yang digunakan dalam sebuah penelitian biologis dan biomedis yang dipilih berdasarkan syarat atau standar dasar yang diperlukan dalam penelitian tersebut [2].

Penelitian dengan menggunakan hewan coba harus memperhatikan beberapa aspek untuk mendapatkan hasil penelitian *reproduksibel* yaitu yang memberikan hasil yang sama apabila suatu proses penelitian diulangi pada lain waktu dan oleh peneliti yang berbeda sehingga aspek yang perlu diperhatikan dalam pengujian menggunakan hewan coba yaitu kondisi lingkungan hewan coba meliputi suhu, kelembapan, makanan, dan kesehatan hewan. Hewan coba yang biasanya digunakan dalam laboratorium yaitu mencit (*Mus musculus* L.) atau tikus putih (*Rattus norvegicus*) dikarenakan memiliki sifat fisiologis yang diperkirakan sesuai dan identik dengan manusia. Berdasarkan yang telah diuraikan tersebut perlu dilaksanakan proses adaptasi hewan coba untuk memperoleh hasil penelitian yang tepat sesuai dengan yang diharapkan oleh peneliti.

Proses mempertahankan homeostasis tubuh dapat dilakukan dengan meningkatkan asupan elektrolit yang harus melebihi ekskresi air dikarenakan sebagian dari jumlah air dan elektrolit tersebut akan diikat didalam tubuh. Apabila jumlah asupan elektrolit dan air lebih kecil dari jumlah yang terabsorpsi maka jumlah zat dalam tubuh akan berkurang. Penggunaan obat diuretika saat ini berkembang dengan pesat pada penderita hipertensi yang erat berhubungan dengan penyakit jantung atau pembuluh darah [3].

Diuretik merupakan senyawa yang dapat meningkatkan volume urin akibat dari efektifitasnya yang langsung terhadap ginjal dan bekerja dengan meningkatkan ekskresi dari ion natrium, klorida atau HCO_3^- yang merupakan elektrolit utama dalam cairan luar

sel. Diuretika juga dapat menurunkan absorpsi kembali elektrolit yang terdapat pada tubulus renalis melalui proses pengangkutan aktif. Perubahan osmosis pada tubulus ginjal dapat meningkat dengan adanya natrium yang lebih banyak pada urin dan pengikatan air terjadi lebih banyak didalam tubulus ginjal sehingga produksi urin menjadi lebih banyak.

Pada peningkatan volume urin umumnya akan terjadi juga perubahan nilai pH urin serta perubahan komposisi ion didalam urin dan darah [4]. Obat yang digunakan untuk meningkatkan proses diuresis umumnya terdiri dari lima golongan yaitu diuretik osmosis, inhibitor karbonik anhidrase, diuretik kuat, tiazid dan diuretik hemat kalium. Setiap golongan senyawa diuretik memiliki mekanisme kerja yang tentunya berbeda pula sehingga untuk mengetahui bagaimana mekanisme kerja dari obat diuretika khususnya furozemid dapat dilakukan pengujian terhadap hewan uji mencit secara oral selain itu dapat dilakukan identifikasi mengenai pengaruh dari pemberian senyawa diuretik furozemid terhadap volume urin yang dihasilkan, warna dan pH urin dari hewan yang diujikan [5].

2. METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Hewan, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana. Waktu pelaksanaan dilakukan pada September hingga Oktober 2019

2.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini adalah spuit 1 cc dan 3 cc, plastik urin, pH meter, gelas ukur 10 mL, gelas beker, sonde.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun seledri (*Apium graveolens*) yang akan dibuat menjadi infusa seledri, hewan uji 6 ekor (mencit) dan akuades.

2.3 Rancangan Percobaan

Percobaan ini menggunakan metode eksperimental murni dengan rancangan acak lengkap pola searah. Variabel-variabel penelitian yang digunakan yaitu variabel kontrol yaitu kontrol positif (hewan uji yang diberikan infusa seledri) dan kontrol negatif

(hewan uji yang tidak diberikan infusa seledri melainkan diberikan akuades). Variabel bebas yang digunakan yaitu dosis obat herbal (Infusa Seledri) yang diberikan. Variabel terikat yaitu volume, pH, warna urin dan waktu onset yang dihasilkan hewan uji (mencit). Data yang diperoleh dari hasil pengamatan langsung pada hewan uji yaitu data kuantitatif volume urin pada hari ke-1 sampai hari ke-14. Volume urin yang diukur adalah volume urin kumulatif dari awal pengamatan. Selain volume urin juga diamati pH, warna urin serta waktu onset yang dihasilkan.

2.4 Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Adaptasi Hewan

a. Penimbangan Mencit

Ditandai mencit 1-6 dengan spidol. Disiapkan neraca analitik dilengkapi dengan beaker glass yang diletakkan terbalik di atas timbangan. Ditimbang mencit satu persatu dari nomor 1-6 dengan cara diletakkan di atas beaker glass. Dicatat bobot mencit yang diperoleh. Ditandai masing-masing mencit dengan nomor 1-6 pada bagian kepala, punggung dan ekor mencit sesuai dengan Peraturan BPOM Nomor 7 Tahun 2014.

b. Pemeriksaan Awal Mencit

Mencit disiapkan pada kandang perlakuan. Kemudian masing-masing mencit dihitung pergerakannya menggunakan stopwatch, volume urin awal, warna urin dan pH urin.

2.4.2 Pemberian Obat Diuretika

Dipisahkan keenam mencit pada masing-masing kandang yang berbeda. Dicatat data awal urin mencit (warna urin, pH urin, dan volume urin). Disiapkan obat herbal (Infusa Seledri) dengan lima variasi dosis yang berbeda. Obat diberikan pada kelima mencit dengan cara per oral. Satu mencit digunakan sebagai kontrol dan diberikan air putih atau akuades. Ditunggu beberapa jam hingga dan dicatat waktu terbentuknya urin dari masing-masing mencit serta dilakukan pengamatan pada urin mencit (warna urin, pH urin, dan volume urin).

2.4.3 Variabel Yang Diamati

Variabel-variabel penelitian yang digunakan diantaranya, variabel kontrol yaitu kontrol positif (hewan uji yang diberikan infusa seledri) dan kontrol negatif (hewan uji yang tidak diberikan infusa seledri melainkan diberikan akuades); variabel bebas yang

digunakan berupa dosis obat herbal (Infusa Seledri) yang diberikan pada hewan uji; serta variabel terikat berupa volume, pH, warna urin dan waktu onset yang dihasilkan hewan uji (mencit).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil

Berikut merupakan hasil pengamatan minggu pertama hingga minggu ketiga :

Tabel 1. Hasil pengamatan urinasi minggu I

Mencit	Dosis	Waktu Diberi	Waktu Urinas	Durasi
I (Infusa seledri)	0,2m L	13.30 WITA	14.35 WITA	1 jam 5 menit
III (Infusa seledri)	0,2m L	14.45 WITA	15.45 WITA	1 jam 30 menit
V (infusa seledri)	0,2m L	14.45 WITA	16.00 WITA	1 jam 15
IV (kontrol negatif)	0,2m L	13.55 WITA	16.55 WITA	2 jam 20 menit
II (kontrol positif)	0,2m L	15.15 WITA	15.45 WITA	30 menit
VII (kontrol normal)	-	14.12 WITA	15.45 WITA	1 jam 33 menit

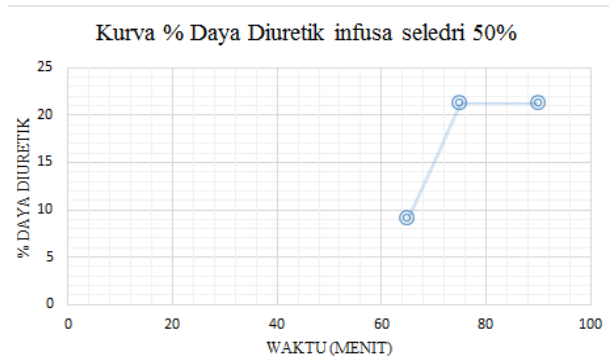
Mencit	Kesadaran	Aktivitas	BB (gram)	Jumlah urin	pH urin
I	Sadar	Aktif	32,568	0,36	5
III	Sadar	Aktif	32,775	0,4	5
V	Sadar	Aktif	32,488	0,4	6
IV	Sadar	Aktif	37,177	0,33	6
II	Sadar	Aktif	28,871	0,15	7
VII	Sadar	Aktif	27,815	0,02	6

Tabel 2. Hasil pengamatan urinasi minggu II

Mencit	Dosis	Waktu Diberi	Waktu Urinas	Durasi
I (Infusa seledri)	0,33mL	14.16 WITA	15.35 WITA	1 jam 51 menit
III (Infusa seledri)	0,34mL	14.30 WITA	15.45 WITA	1 jam 15 menit
VIII (infusa seledri)	0,31mL	14.45 WITA	16.16 WITA	1 jam 31 menit
VII (kontrol negatif)	0,2mL	13.40 WITA	16.15 WITA	2 jam 35 menit

IV (kontrol)	0,2mL	14.15	15.00	45 menit
VI (kontrol)	-	14.05	15.15	1 jam 20 menit

Mencit	Kesadaran	Aktivitas	BB (gram)	Jumlah urin	pH urin
I	Sadar	Aktif	25,930	0,5	6
III	Sadar	Aktif	26,632	0,5	6
VIII	Sadar	Aktif	23,900	0,6	6
VII	Sadar	Aktif	24,059	0,2	6
IV	Sadar	Aktif	30,179	0,6	6
VI	Sadar	Aktif	21,423	0,1	6

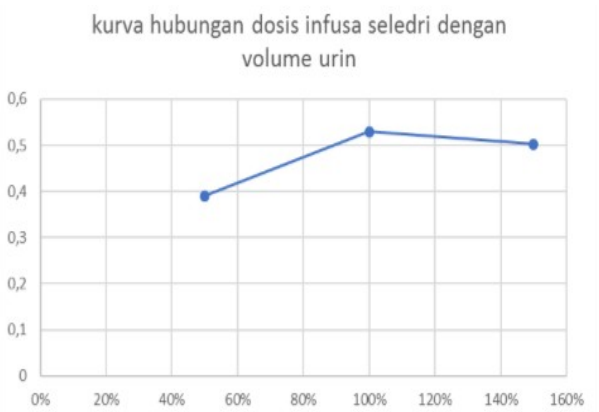


Gambar 3. Kurva % Daya Diuretik Infusa Seledri 50%

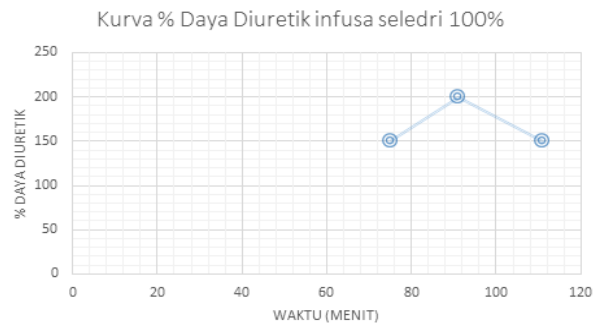
Tabel 3. Hasil pengamatan urinasi minggu III

Mencit	Kesadaran	Aktivitas	BB (gram)	Jumlah urin	pH urin
I	Sadar	Aktif	25,930	0,5	5
III	Sadar	Aktif	26,632	0,5	5
VIII	Sadar	Aktif	23,900	0,5	5
VII	Sadar	Aktif	24,059	0,5	5
IV	Sadar	Aktif	30,179	0,1	5
VI	Sadar	Aktif	21,423	-	-

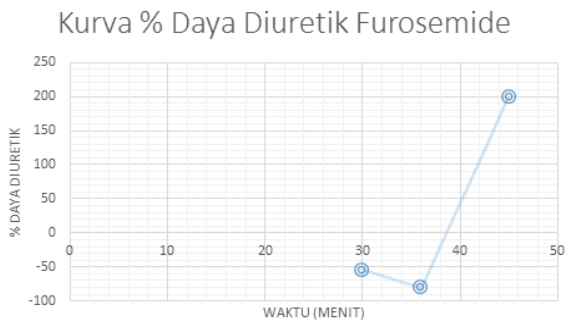
Mencit	Dosis	Waktu Diberi	Waktu Urinas	Durasi
I (Infusa seledri)	0,5mL	14.03	15.39	1 jam 36 menit
III (Infusa seledri)	0,51mL	14.12	15.45	1 jam 33 menit
VI (infusa seledri)	0,46mL	14.46	16.00	1 jam 31 menit
VII (kontrol negatif)	0,2mL	13.48	15.42	2 jam 34 menit
IV (kontrol positif)	0,2mL	14.14	14.50	36 menit
V (kontrol normal)	-	-	-	-



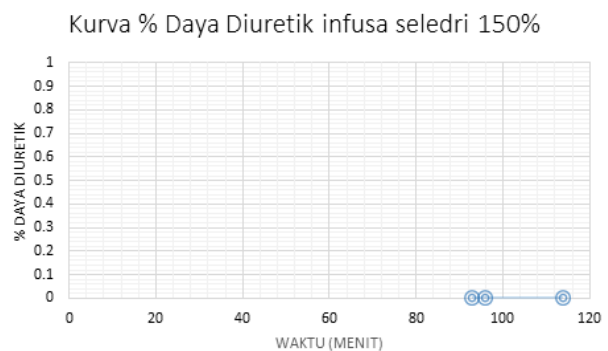
Gambar 1. Kurva Hubungan Dosis Infusa Seledri dengan Volume Urin



Gambar 4. Kurva % Daya Diuretik Infusa Seledri 100%



Gambar 2. Kurva % Daya Diuretik Furosemid



Gambar 5. Kurva % Daya Diuretik Infusa Seledri 150%

3.2 Pembahasan

Berdasarkan kurva hubungan antara dosis infusa seledri yang diberikan dengan volume urin yang dihasilkan mencit pada perlakuan minggu pertama hingga minggu ketiga diketahui bahwa volume urin pada minggu kedua merupakan volume urin rata-rata yang terbesar diantara perlakuan pada minggu ke I, II dan III. Konsentrasi 100% (pada minggu ke-II) mampu memberikan efek diuresis yang maksimal, konsentrasi 50% (pada minggu ke-I) memberikan efek diuresis lebih rendah dibandingkan perlakuan minggu ke-I, sedangkan dengan penambahan konsentrasi menjadi 150% (pada minggu ke-III) menunjukkan adanya efek diuresis namun lebih rendah daripada dengan perlakuan pada minggu ke-II dengan pemberian dosis 100%. Berdasarkan hal di atas menunjukkan bahwa efek maksimal dari daun seledri pada penelitian ini ada pada konsentrasi 100%, dibuktikan dengan meningkatnya konsentrasi terjadi penurunan efek diuresis. Efek maksimal dari suatu obat disebut efikasi maksimal. Efikasi maksimal pada suatu obat adalah efek maksimal yang ditimbulkan oleh obat tersebut, dimana mencerminkan batas limit dari hubungan konsentrasi dengan respon, sehingga ketika ada peningkatan konsentrasi maka efek dari suatu obat akan menurun. Hal ini terbukti pada penelitian ini ketika efikasi maksimal sudah tercapai pada konsentrasi 100% seiring dengan peningkatan dosis maka efeknya semakin menurun [6]. Hal lain yang dapat memicu menurunnya efek diuresis pada dosis infusa 150% adalah efek sedasi yang dihasilkan oleh daun seledri karena seledri mengandung senyawa flavonoid, saponin, tannin, apiin, minyak atsiri, apigenin, kolin, vitamin A, B, C, zat pahit asparagine. Dimana alkaloid saponin dan flavonoid adalah senyawa-senyawa yang memiliki efek sedasi [7].

Diantara keempat kelompok perlakuan mencit, pada kontrol positif atau yang diberi obat furosemide menunjukkan rerata volume urin kumulatif yang rendah apabila dibandingkan dengan kontrol negative maupun kontrol negative atau yang diberi air, namun pada minggu kedua pengamatan kelompok kontrol positif memberikan efek diuresis yang maksimal yakni mencapai 0,6 mL hal ini dikarenakan furosemide merupakan diuretik kuat yang bertitik kerja di lengkungan henle.

Furosemide bekerja dengan cara menghambat reabsorpsi natrium sehingga meningkatkan ekskresi air. Hasil yang tidak maksimal pada perlakuan minggu pertama dan ketiga yang mana tidak memberikan efek diuresis yang optimal hal ini dapat terjadi karena kesalahan praktikan dalam proses menyonde hewan coba dimana saat proses menyonde obat yang diberikan secara oral ini tidak tepat pada sasaran lambung hewan coba, hal ini dapat dilihat karena mencit memuntahkan obat furosemide sehingga efek diuresis yang dihasilkan tidak optimal.

Dosis infusa seledri dengan konsentrasi 100% memberikan efek paling kuat sebagai diuretik dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa infusa daun seledri dapat meningkatkan volume urin yang disebabkan karena adanya kandungan flavonoid yang berperan dalam meningkatkan volume urin (diuresis).

Dari hasil pengamatan pH urin mencit menunjukkan pH urin hewan coba berkisar antara rentang 5-7 yaitu mendekati pH asam-netral. Pengaturan asam basa ditentukan oleh ginjal nilai pH urin. Sejumlah ion HCO_3^- akan difiltrasi secara terus-menerus ke dalam tubulus ginjal dan akan diekskresikan melalui urin, maka akan menyebabkan urin bersifat basa. Sebaliknya apabila sejumlah ion H^+ difiltrasi secara terus-menerus ke dalam tubulus ginjal dan diekskresikan ke dalam urin, maka akan menyebabkan urin bersifat asam. Dalam pengaturan konsentrasi ion H^+ , ginjal memiliki beberapa mekanisme yaitu menekresikan ion H^+ ke tubulus, melakukan reabsorpsi ion HCO_3^- , dan memproduksi ion HCO_3^- yang baru. Hal ini dilakukan untuk mengurangi dan menetralkan kelebihan ion H^+ di dalam tubuh. Sekresi ion H^+ dilakukan oleh transpor aktif sekunder dan transpor aktif primer. Transport aktif sekunder bekerja melalui ko-transpor Na^+ dan H^+ yang berfungsi mensekresikan ion H^+ dengan mengabsorpsi ion Na^+ dan sebaliknya. Transport aktif sekunder terjadi di tubulus proksimal, lengkung Henle segmen asenden, dan tubulus distal. Kemudian, transpor aktif primer bekerja melalui protein pentranspor-hidrogen ATPase yang dapat mentranspor ion H^+ secara langsung ke tubulus. Transpor aktif primer terjadi di tubulus distal dan duktus kolingentes. Hal tersebut sesuai dengan

fungsi dari obat-obat diuretik tersendiri yaitu obat diuretik berfungsi untuk membuang kelebihan cairan (air dan natrium) dari sistem peredaran darah melalui buang air kecil yang sering, agar beban jantung menjadi berkurang [8].

Diuretika dapat menyebabkan suatu keadaan meningkatnya volume urin. Obat-obat ini merupakan penghambat transport ion yang menurunkan reabsorpsi Na⁺ pada bagian-bagian nefron yang berbeda. Akibatnya Na⁺ dan ion lain seperti Cl⁻ memasuki urin dalam jumlah lebih banyak dibandingkan bila keadaan normal bersama-sama air, yang mengangkut secara pasif untuk mempertahankan keseimbangan osmotik. Jadi diuretik meningkatkan volume urin dan sering mengubah pH-nya serta komposisi ion dalam urin dan darah. Namun, efek dari obat diuretika dapat ditentukan pula oleh beberapa faktor lain, yakni kemungkinan dari banyaknya mencit meminum air sebelum dilakukannya uji. Ataupun faktor kesehatan dari mencit yang diberikan perlakuan tidak sama. Selain itu, faktor dari kurang telitinya dalam memberikan sediaan kepada mencit sehingga volume yang diberikan berkurang dan menyebabkan dosisnya juga berkurang dapat pula menurunkan efek dari obat diuretik.

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan terhadap mencit diperoleh nilai validasi metode parameter presisi yakni SD dan RSD untuk control perlakuan. Pada minggu ke I, II dan III untuk dosis infusa seledri masing-masing 50%, 100% dan 150% diperoleh nilai RSD masing-masing sebesar 16,405% ; 19,541% ; dan 11,244% hal ini menunjukkan validasi metode presisi pada minggu I, II dan III belum terpenuhi karena syarat dari metode validasi presisi adalah perolehan nilai RSD tidak boleh lebih dari 2% [9].

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan beberapa hal, diantaranya :

1. Dosis yang diberikan efek maksimal dari infusa daun seledri pada penelitian ini ada pada konsentrasi 100%, dibuktikan dengan meningkatnya volume urin pada mencit.
2. Dosis infusa seledri dengan konsentrasi 100% memberikan efek paling kuat sebagai diuretik dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa infusa daun seledri dapat meningkatkan volume urin yang disebabkan karena adanya kandungan flavonoid yang berperan dalam meningkatkan volume urin (diuresis).

SARAN/REKOMENDASI

Untuk menjaga kondisi dari mencit harus diperhatikan prosedur pemeliharaan mencit harian yaitu membersihkan kotoran kandang, mengganti pakan dan minum, membersihkan tempat makanan dan botol minum agar mencit tetap sehat dan terhindar dari penyakit serta stress. Selain itu, selama proses penelitian berlangsung harus selalu memperhatikan prinsip etika penelitian dengan menggunakan hewan coba.

DAFTAR ACUAN

- [1]. Males, D. K. 2010. Peran uji praklinik dalam bidang farmakologi. Srabaya: Universitas Airlangga Press
- [2]. Ridwan, E. 2012. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. *J Indon Med Assoc.* 63(3): 112-116.
- [3]. Dipiro, J. T., Wells, B. G., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Posey, L. M. 2005. *Pharmacotherapy.* 6th Edition. New York: Appleton ang Lange.
- [4]. Siswandono dan Soekardjo, B. 1995. *Kimia Medisinal.* Surabaya: Airlangga University Press
- [5]. Ernest. 1991. *Dinamika Obat : Farmakologi dan Toksikologi.* Bandung: Penerbit ITB
- [6]. Goodman, A. and Elliot, M. R. 1985. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics.* 7th Edition. New York: Macmillan Publishing Company.
- [7]. Kusuma, S., Riyanto., dan K. Nazip. 2018. Pengaruh pemberian Ekstrak Seledri (*Apium graveolens L.*) dengan Metode Traction Test dan Sumbangannya pada Pembelajaran Biologi SMA. *Jurnal Pembelajaran Biologi.* 5(2) 23-29.
- [8]. Guyton, A. C. dan J. E. Hall. 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.* Edisi 11. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- [9]. Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian.* 1(3)

