

The Effect of Binahong Leaves Extraction (*Anredera Cordifolia (Ten) Steenis*) in 70% Ethanol Toward ALT Activities of Male Rat (*Rattus norvegicus*) of Sprague Dawley which has Induced by Ethanol 50%

Estowo RN, Zulfian, Tjiptaningrum A
Medical Faculty of Lampung University

Abstract

Liver is a body part for which metabolizes ethanol. This influences the raise of free-radical productions that effect to dysfunction liver tissues. The dysfunction itself is indicated by raise of ALT activities which, by that reason, necessarily to research on taking extraction of binahong leaves (*Anredera cordifolia*) toward rat's ALT which has been induced by ethanol. This experiment explains an experimental research which applies controlled-random method during 14 days treatment to 25 rat, that has been separated into 5 groups. During day 1-4 Kn and K+ provided with aquadest; and P1, P2, P3 provided with binahong extract dosed at 10, 20, and 30 mg/kgbw. At day 5 -14, Kn provided with aquadest, K+ with ethanol and P1, P2 and P3 with binahong extract dosed at 10, 20 and 30 mg/kgbw, and each followed by ethanol 10 two hours later. This research reports that there are significant differences in effects between Kn - K+, Kn - P1, Kn - P2, Kn - P3, K+ - P2 and K+ - P3. This shows us that binahong leave extraction dosed at 50 mg/kgbw will not suspend the raise of ALT enzyme, otherwise dosed at 100 mg/kgbw and 200 mg/kgbw will prevent the raise of ALT enzyme.

Keyword: ALT, *Anredera cordifolia*, ethanol

Efek Daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Ten) Steenis*) yang Diekstraksi Etanol 70% erhadap Aktivitas ALT dan AST pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) jantan Galur Sprague Dawley yang Diinduksi Etanol 50%

Abstrak

Hati merupakan organ yang dapat memetabolisme etanol. Hal ini menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas yang akan merusak jaringan hati. Gangguan jaringan hati ditandai dengan peningkatan aktivitas ALT. Untuk itu dilakukan pemberian ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap ALT tikus putih yang diinduksi etanol. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan metode acak terkontrol dengan lama perlakuan 14 hari dan menggunakan 25 ekor tikus yang dibagi dalam 5 kelompok. Pada hari 1-4 Kn dan K+ diberikan akuades, P1, P2, P3 masing-masing diberi ekstrak daun binahong dosis 10, 20 dan 30 mg/kgBB. Pada hari ke 5-14 Kn diberi akuades, K+ diberi etanol; sedangkan P1, P2, P3 masing-masing diberi ekstrak daun binahong dosis 10, 20 dan 30 mg/kgBB, kemudian dua jam kemudian diberi etanol. Hasilnya, terdapat perbedaan bermakna antara Kn-K+, Kn-P1, Kn-P2, Kn-P3, K(+)-P2 dan K(+)-P3. Hal ini menunjukkan ekstrak daun binahong dosis 50 mg/kgBB tidak dapat mencegah kenaikan enzim ALT, tetapi dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB dapat mencegah kenaikan enzim ALT.

Kata kunci: ALT, *Anredera cordifolia*, etanol

Pendahuluan

Hati merupakan organ yang berfungsi mendetoksifikasi zat kimia yang tidak berguna/merugikan tubuh. Termasuk diantaranya etanol. Metabolisme etanol di dalam sel hati menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas sehingga terjadi stres oksidatif yang akan merusak jaringan hati. Reaksi antara etanol dengan H_2O_2 dan radikal reaktif spesies yang lain akan menghasilkan radikal hidroksietil yang merupakan oksidan kuat (Hernawati, 2010). Pada konsentrasi tinggi radikal bebas dan bahan sejenisnya berbahaya bagi makhluk hidup dan merusak semua bagian pokok sel. Radikal bebas juga mengganggu produksi normal DNA dan merusak lipid pada membran sel (Arief, 2007).

Kerusakan sel hati secara klinis baru dapat diketahui jika sudah lanjut. Kerusakan pada sel hati yang sedang berlangsung dapat diketahui dengan mengukur parameter fungsi hati. Peningkatan aktivitas ALT dalam serum menjadi petunjuk sensitif ke arah kerusakan hati karena sedikit kondisi selain hati yang berpengaruh pada kadar ALT dalam serum (Widmann, 1995).

Salah satu tanaman tradisional yang sering digunakan masyarakat untuk mencegah kerusakan hati adalah tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Tanaman binahong mulai menjadi tanaman yang serius diteliti di Australia, Afrika Selatan, Hawaii, New Zeland dan negara pasifik lainnya (Cagnotti, 2007). Hal ini disebabkan karena tanaman binahong memiliki kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun binahong, yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, triterpenoid, saponin, dan minyak atsiri (Rochani, 2009).

Untuk membuktikan hal ini, maka akan dilakukan penelitian untuk mengetahui efek ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) galur Sparague Dawley yang diinduksi etanol. Parameter yang digunakan sebagai indikator kerusakan sel hati adalah aktivitas enzim ALT.

Metode

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan metode acak terkontrol menggunakan *post test only controlled group design*. Pada penelitian ini 25 ekor tikus putih galur *Sprague Dawley* berumur 2-3 bulan yang dipilih secara random yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu Kn (kontrol normal), K+ (kontrol positif diberikan akuades pada hari 1-4, dan dilanjutkan etanol 50% 10 mg/kgBB pada hari 5-14), P1 (perlakuan 1 diberikan ekstrak binahong dosis 50 mg/kgBB pada hari 1-4, dan dilanjutkan ekstrak binahong dosis 50 mg/kgBB dan etanol 10 mg/kgBB hari 5-14), P2 (perlakuan 2 diberikan ekstrak binahong dosis 100 mg/kgBB pada hari 1-4, dan dilanjutkan ekstrak binahong dosis 100 mg/kgBB dan etanol 10 mg/kgBB hari 5-14), dan P3 (perlakuan 3 diberikan ekstrak binahong dosis 200 mg/kgBB pada hari 1-4, dan dilanjutkan ekstrak binahong dosis 200 mg/kgBB dan etanol 10 mg/kgBB hari 5-14). Masing-masing perlakuan diberikan dengan menggunakan sonde oral selama 2 minggu.

Pengambilan sampel darah dilakukan pada akhir penelitian. Tikus dianestesi dengan Ketamine-xylazine 75-100 mg/kg + 5-10 mg/kg secara IP kemudian tikus di *euthanasia* menggunakan metode *cervical dislocation*. Setelah tikus dipastikan mati, darah di ambil melalui jantung dengan menggunakan alat suntik sebanyak ± 2 cc, kemudian langsung dimasukkan ke dalam *vacutainer SST (Yellow Top)* yang sudah berisi *Clot activator* dan *Inner separator*.

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan aktivitas enzim ALT kemudian diuji analisis. Analisis statistik untuk mengetahui normalitas data dengan uji Shapiro-Wilk (karena jumlah sampel < 50). Kemudian untuk mengetahui homogenitas dilakukan uji Levene. Jika varian data berdistribusi normal serta homogen, maka dilanjutkan dengan uji parametrik *one way ANOVA*. Kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc* LSD. Hipotesis akan dianggap bermakna bila $p < 0,05$.

Jika tidak homogen, atau distribusi tidak normal atau tidak homogen dan distribusi tidak normal, dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal Wallis*. Kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc* *Mann Whitney*. Hipotesis akan dianggap bermakna bila $p < 0,05$.

Hasil

Setelah dilakukan penelitian terhadap aktivitas enzim ALT pada tikus yang diberi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dengan induksi etanol, maka didapatkan hasil pada masing-masing kelompok, yang dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Aktivitas Enzim ALT (U/L)

Nomer Sampel	Kelompok				
	Kn	K+	P1	P2	P3
1	32	66	58	50	58
2	28	57	59	55	53
3	29	67	62	53	61
4	25	67	58	49	47
5	26	64	49	60	47

Pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran hasil pemeriksaan aktivitas enzim ALT tampak pada tabel di bawah ini.

Tabel 2. Pasangan Ukuran Pemusatan dan Penyebaran Hasil Pemeriksaan Aktivitas Enzim ALT

Kelompok	Rerata(IU/L) \pm Standar Deviasi	Median (minimum-maksimum) IU/L
Kn	28 \pm 2.7	28 (25-32)
K+	64.2 \pm 4.2	66 (57-67)
P1	57.2 \pm 4.8	58 (49-62)
P2	53.4 \pm 4.3	53 (49-60)
P3	53.2 \pm 6.3	53 (47-61)

Data hasil penelitian aktivitas enzim ALT kemudian diuji normalitas dengan Saphiro Wilk. Diperoleh nilai $p=0,043$. Data dinyatakan terdistribusi normal jika nilai $p>0,05$. Karena distribusi tidak normal, dilakukan transformasi data untuk mengusahakan distribusi data menjadi normal. Diperoleh nilai $p=0,034$, sehingga disimpulkan proses transformasi tidak berhasil dan distribusi aktivitas enzim ALT tidak normal.

Karena distribusi tidak normal, maka dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis*. Diperoleh nilai $p=0,002$. Nilai $p<0,05$, maka paling tidak terdapat dua kelompok data yang mempunyai perbedaan rerata yang bermakna (untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara bermakna, harus dilakukan analisis *Post-Hoc*) (diambil dapat diambil kesimpulan paling tidak terdapat perbedaan aktivitas enzim ALT antara dua kelompok).

Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan, dilakukan uji Post Hoc *Mann-Whitney*, dan didapatkan hasil pada tabel dibawah ini. Data antar kelompok dinyatakan memiliki perbedaan jika nilai $p<0,05$, dan dapat dilihat di tabeh dibawah.

Tabel 3. Hasil Uji Post Hoc Mann Whitney

	Kn	K+	P1	P2	P3
Kn	-	0.009*	0.009*	0.009*	0.009*
K+	-		0.074	0.016*	0.027*
P1	-			0.293	0.243
P2	-				0.834
P3					

Keterangan: * bermakna bila $p<0,05$

Pembahasan

Nilai $p<0,05$ menandakan terdapat perbedaan bermakna antara dua kelompok dan nilai $p>0,05$ menandakan terdapat perbedaan tidak bermakna antara dua kelompok. Untuk penyajian data, bila distribusi normal, dianjurkan menggunakan mean dan standar deviasi. Bila distribusi tidak normal, dianjurkan menggunakan median dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran (Dahlan, 2008).

Berdasarkan hasil uji statistik Post Hoc Mann Whitney, perbandingan probabilitas antar Kn dan K+ memiliki $p=0.009$ ($p<0.05$, terdapat perbedaan bermakna antara dua kelompok tersebut). Terdapat perbedaan bermakna antara tikus yang hanya diberi akuades dengan tikus yang hanya diinduksi dengan etanol 10 mg/kgBB.

Aktivitas enzim ALT yang normal pada tikus putih yaitu 17,5-30,2 U/L (Smith dkk, 1988). Kn memiliki nilai 28 (25-32) U/L sehingga dinyatakan sesuai. Tetapi sampel 1 pada Kn memiliki nilai 32 U/L, sedikit lebih tinggi dari batas atas nilai normal yaitu 30,2 U/L. Menurut penelitian yang dilakukan Makkonen tahun 2009, 60% dari variasi serum ALT dapat ditentukan oleh faktor genetik. Jadi, variasi genetik dapat mempengaruhi kadar aktivitas ALT sehingga pada kelompok normal terdapat satu sampel yang memiliki kadar aktivitas ALT diatas normal.

K+ memiliki nilai 66 (57-67) U/L. Nilai tersebut besar dari median Kn, yaitu 28 (25-32) U/L. Dapat diartikan tikus yang diberikan etanol dosis 10 mg/kgBB mengalami kenaikan pada aktivitas enzim ALT diatas kelompok normal. Hal ini sesuai dengan penelitian Chen (2010) bahwa dosis 5 mg/kgBB dapat merusak hati dan Juwita 2011 bahwa pemberian etanol 2 mg/kgBB selama 7 hari dapat meningkatkan kadar ALT.

Alkohol yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami serangkaian proses biokimia. Metabolisme alkohol melibatkan 3 jalur, yaitu: Jalur Sitosol/Lintasan Alkohol Dehidrogenase, Jalur Peroxisom/Sistem Katalase, Jalur Mikrosom (Zakhari, 2006).

Oleh ketiga jalur tersebut alkohol akan diubah menjadi asetaldehid, kemudian akan diubah menjadi asetat oleh aldehyd dehidrogenase di dalam mitokondria. (Zakhari, 2006).

Etanol dapat menimbulkan kerusakan pada hepar disebabkan oleh asetaldehid adduct, ROS (Reactive Oxidative Species), dan rasio NAD : NADH. (Hernawati, 2010). Etanol menginduksi stress oksidatif merupakan mekanisme utama etanol menyebabkan kerusakan pada hati. Jalur CYP2E1 memetabolisme dan mengaktivasi substrat etanol menjadi toksik. CYP2E1 juga menghasilkan ROS (reactive oxygen species), seperti superoksida dan peroksida, dan jika terdapat ketersediaan katalis, memproduksi oksidan kuat seperti radikal hidroksil (Lu and Cederbaum, 2008).

Menurut penelitian Kono pada tahun 2001, selain radikal hidroksietil, pada peminum alkohol kronis terjadi peningkatan radikal bebas yang lain yang sumbernya belum jelas. Diperkirakan sumber dari radikal bebas tersebut adalah *xanthin oxidase*

dan NADPH sebab penghambatan enzim tersebut dapat menurunkan produksi radikal bebas pada tikus yang diberikan etanol dalam (Hernawati, 2010).

Gangguan hati ditandai dengan peningkatan aktivitas serum transaminase berupa ALT (*Alanine aminotransferase*) (Wilmana, 1995). Karena itu pada K⁺ terjadi peningkatan aktivitas ALT.

Probabilitas antara kelompok Kn dan P1, Kn dan P2, Kn dan P3 adalah $p=0.009$ ($p<0.05$). Terdapat perbedaan bermakna antar kelompok tersebut. Dapat dinyatakan aktivitas ALT pada tikus yang diberi ekstrak etanol daun binahong dosis 50, 100, dan 200 mg/kgBB dan diinduksi etanol 10 mg/kgBB memiliki perbedaan bermakna dengan tikus yang hanya diberi akuades.

Nilai P1 adalah 58 (49-62) U/L, P2 adalah 53 (49-60) U/L, P3 adalah 53 (47-61) U/L. Semuanya lebih tinggi daripada Kn yaitu 28 (25-32) U/L. Dapat dikatakan kelompok tikus yang diberi ekstrak binahong dengan dosis 50, 100 dan 200 mg/kgBB dan diinduksi etanol 10 mg/kgBB memiliki aktivitas enzim ALT yang lebih tinggi daripada tikus kelompok normal.

Probabilitas antara kelompok K⁺ dan P1 memiliki $p=0.074$ ($p >0.05$). Tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok tersebut. Dapat dinyatakan aktivitas ALT pada tikus yang diberi ekstrak etanol daun binahong dosis 50 mg/kgBB dan diinduksi etanol 10 mg/kgBB tidak memiliki perbedaan bermakna dengan tikus yang hanya diinduksi etanol 10 mg/kgBB.

Nilai kelompok P1 yaitu 58 (49-62) U/L dan K⁺ yaitu 66 (57-56) U/L. Aktivitas enzim ALT pada kelompok tikus yang diberi ekstrak daun binahong dengan dosis 50 mg/kgBB dan diinduksi etanol 10 mg/kgBB sedikit lebih tinggi daripada kelompok tikus yang hanya diberikan etanol 10 mg/kgBB. Dapat disimpulkan pemberian ekstrak binahong dosis 50 mg/kgBB tidak efektif dalam mencegah kenaikan ALT. Probabilitas antara kelompok K⁺ dan P2, K⁺ dan P3 memiliki $p=0,016$ dan $p=0,027$. Keduanya termasuk $p<0.05$, yang berarti terdapat perbedaan antar dua kelompok tersebut. Aktivitas ALT pada tikus yang diberi ekstrak etanol daun binahong dosis 100, 200 mg/kgBB dan diinduksi etanol 10 mg/kgBB mengalami perbedaan dengan tikus yang hanya diinduksi etanol 10 mg/kgBB.

Nilai kelompok P2 yaitu 53 (49-60) U/L, dan kelompok P3 yaitu 53 (47-61) U/L. Semuanya lebih rendah daripada K+ yang sebesar 28 (25-32) U/L. Seperti yang telah disebutkan di atas, median kelompok P2 dan P3 lebih besar daripada Kn. Jadi kelompok tikus yang diberi ekstrak daun binahong dosis 100, dan 200 mg/kgBB dengan induksi etanol 10 mg/kgBB memiliki aktivitas ALT yang lebih tinggi daripada yang hanya diberi akuades, tetapi lebih rendah daripada yang hanya diberi etanol 10 mg/kgBB saja. Dapat disimpulkan pemberian ekstrak binahong dosis 100, dan 200 mg/kgBB dapat mencegah peningkatan aktivitas enzim ALT walaupun tidak mencapai normal.

Ekstrak binahong mengandung antioksidan flavanoid. Antioksidan dapat menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil (Selawa dkk, 2013)

Antioksidan merupakan senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas dan dapat memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas. Antioksidan berdasarkan fungsinya dikelompokkan menjadi antioksidan primer, antioksidan sekunder, antioksidan tersier, *oxygen scavenger*, dan *chelators* (Kumalaningsih, 2006).

Antioksidan primer adalah antioksidan yang berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru, karena kemampuannya untuk merubah radikal bebas yang ada sebelum bereaksi. Antioksidan sekunder adalah senyawa penangkap radikal bebas yang mampu mencegah terjadinya reaksi berantai, sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih hebat. Sedangkan antioksidan tersier merupakan senyawa yang dapat memperbaiki kerusakan sel ataupun jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. *Oxygen scavenger* adalah antioksidan yang dapat mengikat oksigen, sehingga tidak mendukung kelangsungan reaksi oksidasi oleh radikal bebas (Kumalaningsih, 2006). Flavanoid termasuk ke dalam antioksidan primer (Sies dalam Halim, 2011). Hal inilah yang menyebabkan ekstrak binahong dosis 100, dan 200 mg/kgBB dapat mencegah peningkatan aktivitas enzim ALT.

Probabilitas anatara kelompok P1 dan P2, P1 dan P3, dan P2 dan P3 memiliki $p=0.293$, $p=0.243$ dan $p=0.834$. Ketiganya termasuk $p>0.05$, yang artinya tidak

terdapat perbedaan antar kelompok. Dapat dinyatakan aktivitas ALT pada tikus yang diberi ekstrak etanol daun binahong dosis 50 mg/kgBB dan diinduksi etanol 10 mg/kgBB tidak berbeda dengan tikus yang diberi ekstrak etanol daun binahong dosis 100 mg/kgBB dan diinduksi etanol 10 mg/kgBB. Aktivitas ALT pada tikus yang diberi ekstrak etanol daun binahong dosis 50 mg/kgBB dan diinduksi etanol 10 mg/kgBB tidak berbeda dengan tikus yang diberi ekstrak etanol daun binahong dosis 200 mg/kgBB dan diinduksi etanol 10 mg/kgBB. Aktivitas ALT pada tikus yang diberi ekstrak etanol daun binahong dosis 100 mg/kgBB dan diinduksi etanol 10 mg/kgBB tidak berbeda dengan tikus yang diberi ekstrak etanol daun binahong dosis 200 mg/kgBB dan diinduksi etanol 10 mg/kgBB.

Median dari kelompok P1 adalah 58 (49-62) U/L, P2 adalah 53 (49-60) U/L, P3 adalah 53 (47-61) U/L. Tidak terdapat nilai yang signifikan antara masing-masing kelompok tikus yang diberi ekstrak etanol dosis 50, 100 dan 200 mg/kgBB diinduksi etanol 10 mg/kgBB.

Simpulan

Ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordofolia* (Ten.) Steenis) dengan dosis 50 mg/kgBB tidak dapat mencegah peningkatan ALT tikus yang diinduksi oleh etanol. Ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordofolia* (Ten.) Steenis) dengan dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB dapat mencegah peningkatan ALT tikus yang diinduksi oleh etanol.

Daftar Pustaka

- Arief S. 2007. Radikal bebas. Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Anak FK UNAIR/RSU Dr. Soetomo Surabaya. hlm. 1.
- Cagnotti. 2007. Biology and host specificity of *Plectonocha correntina* Lacordaire (Chrysomelidae), a candidate for the biological control of *Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis (Basellaceae). Abstract. Argentina: South American Biological Control Laboratory. hlm. 1.
- Chen X. 2010. Protective effect of quercetin on liver injury induced by ethanol. *Pharmacognosy Magazine*. pp: 135-141.
- Dahlan MS. 2008. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan: deskriptif, bivariat, dan multivariat. Edisi 3. Jakarta: Salemba Medika. hlm.3
- Halim, F. 2011. Peran senyawa antioksidan dalam permen coklat terhadap pengaturan tekanan darah manusia. Penulisan dan Seminar Ilmiah S-1. Surabaya: Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
- Hernawati. 2010. Gambaran efek toksik etanol pada sel hati. Bandung: UPI. hlm. 9.
- Kumalaningsih S. 2006. Antioksidan alami penangkal radikal bebas, sumber, manfaat, cara penyediaan dan pengolahan. Surabaya: Trubus Agrisarana.
- Lu Y, Cederbaum AI. 2008. CYP2E1 and oxidative liver injury by alcohol. *Free Radic Biol Med*. 44(5): 723-738.
- Makkonen J, Pietilainen KH, Rissanen A, Kaprio J, Yki-Jarvien H. 2009. Genetic factors contribute to variation in serum alanine aminotransferase activity independent of obesity and alcohol: a study in monozygotic and dizygotic twins. *Journal of Hepatology*. pp: 1.
- Rochani N. 2009. Uji aktivitas antijamur ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap *Candida albicans* serta skrining fitokimianya. Skripsi. Surabaya: Farmasi UMS.
- Selawa W, Runtuwene MRJ, Citraningtyas G. 2013. Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) *Jurnal Ilmiah Farmasi*. UNSRAT. Manado. hlm. 1-6.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S. 1988. Pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis - tikus laboratorium (*Rattus norvegicus*). Jakarta: Universitas Indonesia. hal. 37-57
- Widmann FK. 1995. Tinjauan klinis atas hasil pemeriksaan laboratorium. Edisi 9. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. hlm :331.
- Wilmana PF. 1995. Analgesik-antipiretik, analgesik anti-inflamasi non steroid dan obat pirai: farmakologi dan terapi. Edisi ke 4. Jakarta. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. hlm. 214- 215.
- Zakhari S. 2006. Overview: how is alcohol metabolized by the body. hlm. 1-10.