

**Uji Toksisitas Subkronik Piperin Dalam Lada Putih (*Piper nigrum* L)  
Terhadap Skor Kerusakan Hati dan Jumlah Polimorfonuklear Hati dan  
Ginjal Pada Mencit Balb/C**

**Subchronic Toxicity Test of Piperin in White Pepper (*Piper nigrum* L)  
Against Liver Damage and Polymorphonuclear Amount of Liver and Kidney  
in Balb / C Mice**

**Sri Tasminatun<sup>1</sup>, Firhan Farras Al-Fajri<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Profesi Apoteker Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

<sup>2</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan,

Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

[sri.tasminatun@umy.ac.id](mailto:sri.tasminatun@umy.ac.id)

**Intisari**

Piperin memiliki efek hepatoprotektif, antiinflamasi, antihipertensi dan antiasma. Penelitian bertujuan untuk mengetahui efek toksik piperin sub kronik terhadap tingkat kerusakan hati dan jumlah polimorfonuklear (PMN) hati dan ginjal. Metode yang digunakan ialah *post only control group design* dengan subjek uji 30 ekor mencit jantan galur Balb/C, 2-3 bulan, berat 35-45 gram, dibagi menjadi kelompok kontrol, dosis 17,5 mg/kgBB, dosis 35 mg/kgBB, dosis 70 mg/kgBB dan 140 mg/kgBB. Subjek dikorbankan lalu diambil organ hati dan ginjal untuk dibuat preparat dengan pengecatan HE. Preparat diberi skor kerusakan hati dan skor jumlah polimorfonuklear. Data dianalisis dengan uji Kruskall-Wallis dan uji Mann-Whitney. Hasil menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dibanding seluruh kelompok perlakuan pada setiap parameter. Pemberian piperin sub kronik selama 21 hari menunjukkan efek toksik yang ditandai dengan peningkatan skor kerusakan hati dan skor jumlah polimorfonuklear hati dan ginjal. Kerusakan meningkat seiring dengan semakin tingginya dosis.

**Kata kunci: ginjal, hati, piperin, PMN, uji toksisitas sub kronik**

**Abstract**

Piperin has a hepatoprotective, anti-inflammatory, antihypertensive and anti-asthma effect. The study aimed to determine the toxic effects of subchronic piperine on the level of liver damage and the amount of liver and kidney polymorphonuclear (PMN). The method used is *post only control group design* with test subjects 30 male mice Balb / C strain, 2-3 months, weight 35-45 grams, divided into a control group, dose 17.5 mg / kgBB, dosage 35 mg / kgBB , dosage of 70 mg / kgBB and 140 mg / kgBB. Subjects were sacrificed and the liver and kidneys were taken to make preparations with HE staining. Preparations were given liver damage scores and polymorphonuclear number scores. Data were analyzed by the Kruskall-Wallis test and the Mann-Whitney test. The results

showed a significant difference between the control groups compared to all treatment groups on each parameter. The administration of subchronic piperine for 21 days showed a toxic effect characterized by an increase in liver damage scores and a score of the number of polymorphonuclear liver and kidneys. Damage increases with increasing dosage.

**Keywords: kidney, liver, piperine, PMN, sub-chronic toxicity test**

## Pendahuluan

Piperin merupakan salah satu senyawa yang terdapat dalam lada putih (*Piper nigrum* L). Penelitian sebelum menunjukkan bahwa piperin memiliki beberapa efek farmakologi diantaranya sebagai antiinflamasi dan antiarthritis,<sup>1</sup> efek hepatoprotektif pada dosis 2,5-10 mg/kgBB,<sup>2</sup> antihipertensi pada dosis 1-10 mg/kgBB,<sup>3</sup> dan sebagai antiasma pada dosis 2,25 dan 4,5 mg/kgBB.<sup>4</sup>

Dalam kaitannya dengan pengembangan obat baru terdapat beberapa uji yang perlu dilakukan, salah satunya ialah uji toksisitas. Uji toksistas merupakan suatu uji untuk mengetahui efek toksik dari suatu zat

sehingga didapatkan hubungan antara dosis dengan respon pada pemberian zat uji tersebut.<sup>5</sup>

Terdapat beberapa organ yang rawan terkena dampak efek toksik dari suatu zat, beberapa diantaranya ialah hati dan ginjal. Hati merupakan salah satu organ penting pada manusia yang berfungsi sebagai tempat metabolisme serta tempat penyimpanan beberapa vitamin seperti vitamin A, B12, D, E dan K. hati juga berfungsi sebagai organ yang melakukan detoksifikasi dengan melakukan metabolisme *xenobiotic*.<sup>6</sup> Ginjal merupakan salah satu organ penting pada manusia

yang rawan terkena efek toksik akibat penggunaan suatu obat khususnya pada bagian nefron.<sup>7</sup> Ginjal memiliki fungsi sebagai pengatur volume cairan dalam tubuh dan memiliki fungsi vital untuk melakukan filtrasi darah melalui glomerulus.<sup>8</sup>

Salah satu parameter yang dapat diukur untuk menilai adanya kerusakan pada hati dan ginjal ialah adanya sel polimorfonuklear (PMN). Polimorfonuklear ialah jenis leukosit yang pertama kali muncul ketika terdapat benda asing pada bagian tersebut dan berfungsi untuk menghancurkan serta berfungsi untuk menetralkan benda-benda asing pada bagian tersebut.<sup>9</sup>

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan uji toksisitas piperin sebagai informasi

keamanan penggunaannya agar pemanfaatannya menjadi lebih optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksik dari piperin yang diujikan pada hewan uji.

### **Metode Penelitian**

#### **Alat Penelitian**

Timbangan analitik, blender, ayakan ukuran 60 mesh, toples, alat-alat gelas, corong, pengaduk, *rotary* evaporator, cawan porselin, mortir, stamper, penggaris, pipa kapiler, pipet ukur, pro pipet, kertas saring, aluminium foil, plat silica gel 60 GF<sub>254</sub>, bejana elusi KLT, perangkat sokhletasi, Lampu UV-Vis, spuit, mikroskop.

#### **Bahan Penelitian**

Biji *Piper nigrum* L, etil asetat, etanol 96%, toluene, kristal

piperin standar, larutan formalin 10%, dan *corn oil*.

### **Subjek Penelitian**

Subjek yang digunakan ialah mencit galur Balb/C berumur 2-3 bulan berjenis kelamin jantan dengan berat badan 35-45 gram sebanyak 30 ekor dan didapat dari Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

### **Cara Kerja**

#### **1. Isolasi Piperin**

Isolasi piperin dilakukan dengan beberapa tahap yang terdiri dari pengumpulan simplisia kering biji lada putih (*Piper nigrum* L) yang didapat dari pasar tradisional Gamping, Bantul, Yogyakarta dan dideterminasi di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Ahmad Dahlan. Biji lada

putih selanjutnya diubah menjadi bentuk serbuk untuk dilakukan ekstraksi dengan sokhletasi menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak yang didapat selanjutnya diidentifikasi menggunakan KLT menggunakan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dengan fase gerak toluene : etil asetat dengan perbandingan 7:3.

#### **2. Uji Toksisitas Sub Kronik**

Subjek uji dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol, dosis 17,5 mg/kgBB, dosis 35 mg/kgBB, dosis 70 mg/kgBB dan dosis 140 mg/kgBB.

Subjek uji diberikan ekstrak piperin secara oral. Uji toksisitas sub kronik dilakukan selama 21 hari. Pada hari ke-22 seluruh subjek uji dikorbankan dan diambil organ hati dan ginjalnya kemudian difiksasi menggunakan larutan formalin 10%

untuk selanjutnya dibuat preparat dengan pengecatan HE di Laboratorium Patologi-Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.

Parameter yang diamati meliputi skor kerusakan hati serta jumlah sel polimorfonuklear (PMN) hati dan ginjal.

### 3. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa skor kerusakan hati dan skor jumlah polimorfonuklear hati dan ginjal. Data tersebut selanjutnya dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

### Hasil dan Pembahasan

Uji toksisitas sub kronik bertujuan untuk mengetahui efek toksik dari suatu sediaan uji dengan pemberian dosis berulang secara oral

kepada hewan uji selama tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan uji.<sup>5</sup> Rendemen yang didapat dari ekstraksi ialah 2,23%.

Identifikasi piperin dilakukan dengan membandingkan nilai  $R_f$  pada standar piperin dengan sampel hasil ekstraksi dan dilakukan pengamatan di bawah lampu UV 254 nm. Berdasarkan perhitungan nilai  $R_f$  didapatkan nilai  $R_f$  sampel hasil ekstraksi ialah sebesar 0,35. Sedangkan nilai  $R_f$  dari standar piperin ialah sebesar 0,4. Nilai tersebut tidaklah jauh berbeda antara piperin hasil ekstraksi dengan standar piperin yang dijadikan sebagai pembanding dan dapat dikatakan bahwa pada sampel memiliki kandungan piperin yang sama dengan piperin standar.

## 1. Kerusakan Hati

**Tabel 1.** Persentase Jumlah Sel Hepar Normal dan Sel Hepar yang Mengalami Kerusakan Setelah Pemberian Piperin

Kelompok	Jumlah Sel Normal (%)	Jumlah Sel Rusak (%)		
		Degenerasi Parenkim	Degenerasi Hidropik	Nekrosis
Kontrol	91	5,54	1,1	2,35
Dosis 17,5 mg/kgBB	66,67	24,46	2,56	6,3
Dosis 35 mg/kgBB	36,04	47,75	5,76	10,45
Dosis 70 mg/kgBB	26,58	48,66	10,72	14,03
Dosis 140 mg/kgBB	13,23	53,47	12,1	21,19

Berdasarkan data pada Tabel 1. dapat dilihat bahwa jumlah sel normal pada kelompok kontrol lebih banyak (66,67%) dibanding sel yang mengalami degenerasi parenkim, degenerasi hidropik dan nekrosis. Hasil penelitian Syafitri (2018),<sup>10</sup> menunjukkan bahwa persentase jumlah sel normal pada kelompok kontrol ialah 78,58% yang berarti tetap terjadi kerusakan pada sel hepar pada kelompok kontrol. Kerusakan sel pada kelompok kontrol dapat

diakibatkan oleh kondisi awal organ hati hewan uji atau kondisi hati yang telah mengalami kerusakan sebelumnya. Selain itu faktor lain yang dapat menyebabkan kerusakan hati pada kelompok kontrol ialah faktor psikologi hewan uji, penyakit yang menyerang hewan uji selama perlakuan, proses pembuatan preparat yang kurang sempurna maupun faktor imunitas dari hewan uji tersebut.<sup>11</sup>

Pada kelompok dosis 17,5 mg/kgBB , 35 mg/kgBB dan 70 mg/kgBB memiliki jumlah sel yang mengalami kerusakan lebih sedikit dibandingkan pada dosis 140 mg/kgBB. Pada kelompok dosis 140 mg/kgBB jumlah sel hati yang mengalami degenerasi parenkim lebih banyak (53,47%) dibanding dengan sel yang mengalami degenerasi hidropik (12,1%) dan sel yang mengalami nekrosis atau kematian (21,19%). Jumlah sel yang mengalami nekrosis pada kelompok dosis 140 mg/kgBB memiliki jumlah paling banyak dibandingkan dengan kelompok lainnya. Hal tersebut dapat disebabkan karena tingginya dosis piperin yang diberikan kepada hewan uji selama perlakuan sehingga terakumulasi dan menjadi toksik. Pada dosis yang tinggi kandungan

tersebut dapat menimbulkan reaksi yang dapat menyebabkan terjadinya nekrosis atau kematian sel.<sup>12</sup>

Degenerasi parenkim ialah tingkat degenerasi ringan dan bersifat reversible, degenerasi ini terjadi pada bagian mitokondria dan juga retikulum endoplasma akibat suatu rangsangan yang menyebabkan oksidasi.<sup>13</sup> Degenerasi hidropik merupakan degenerasi yang serupa dengan degenerasi parenkim dan juga bersifat reversible. Namun derajat degenerasi hidropik lebih parah dibandingkan dengan degenerasi parenkim, hal tersebut karena pada degenerasi hidropik vakuola tampak berisi air dalam sitoplasma yang tidak mengandung lemak atau glikogen.<sup>14</sup> Nekrosis ialah kematian sel atau jaringan pada makhluk hidup.<sup>15</sup> Sel yang

mengalami nekrosis atau kematian pada sel memiliki perubahan pada intinya, seperti karioreksis (fragmentasi material isi), kariolisis (kromatin inti menjadi lisis) dan piknotik (penggumpalan kromatin).<sup>13</sup>

Hasil pengamatan kerusakan hati selanjutnya dinilai menggunakan tabel skoring Manja Roenigk pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Tabel skoring kerusakan hati Manja Roenigk

Skor	Tingkat Kerusakan
1	Sel hepatosit normal dengan batas yang jelas, inti bulat dengan kromatin yang tersebar dan menyerap zat warna yang sempurna
2	Degenerasi parenkim pada hepatosit hati
3	Degenerasi hidropik pada parenkim hati
4	Nekrosis hati

Hasil data skor kerusakan hati selanjutnya dianalisis dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-

Whitney. Hasil uji statistik skor kerusakan hati dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Data Rata-rata Skor Kerusakan Hati

No.	Kelompok	Nilai Skor Kerusakan Hati
1	Kontrol	1,13 ± 0,05 <sup>a</sup>
2	Dosis 17.5 mg/kgBB	1,53 ± 0,34 <sup>b</sup>
3	Dosis 35 mg/kgBB	1,91 ± 0,20 <sup>c</sup>
4	Dosis 70 mg/kgBB	2,10 ± 0,20 <sup>c</sup>
5	Dosis 140 mg/kgBB	2,41 ± 0,14 <sup>d</sup>

Keterangan: Nilai yang diikuti dengan huruf yang berbeda menandakan perbedaan yang signifikan

Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Perbedaan yang signifikan juga terlihat antara kelompok dosis 17,5 mg/kgBB, 35 mg/kgBB dan 140 mg/kgBB. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok dosis 35 mg/kgBB dengan dosis 70 mg/kgBB. Kelompok dosis 140 mg/kgBB memiliki nilai rata-rata skor kerusakan hati tertinggi dibanding dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lainnya yang berarti pada dosis tersebut terjadi kerusakan hati yang paling parah dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lainnya. Hal tersebut dapat terjadi karena tingginya kadar piperin.

## 2. Sel Polimorfonuklear

Berdasarkan pengamatan pada kelompok kontrol tidak ditemukan adanya sel PMN baik pada ginjal maupun hati. Pada kelompok dosis 17,5 mg/kgBB, 35 mg/kgBB, 70 mg/kgBB dan 140 mg/kgBB ditemukan adanya sel PMN baik pada organ hati maupun ginjal hewan uji. Hal tersebut menandakan adanya kerusakan pada hati dan ginjal akibat pemberian piperin secara terus-menerus. Adapun jumlah sel PMN yang ditemukan pada masing-masing organ meningkat seiring dengan semakin tingginya dosis yang diberikan selama perlakuan. Peningkatan jumlah PMN yang terjadi merupakan salah satu respon tubuh akibat keadaan patologis

tertentu seperti infeksi akut, inflamasi, kerusakan jaringan maupun gangguan metabolik pada tubuh.<sup>16</sup>

Hasil pengamatan jumlah sel polimorfonuklear selanjutnya dinilai dengan melakukan skoring yang mengacu pada Makiyah (2006),<sup>17</sup> pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Tabel skoring jumlah PMN

Jumlah PMN	Skor
0	0
1-5	1
6-10	2
11-15	3
16-20	4
Terbentuk nodulus limfatikus	5

Hasil data skor jumlah PMN pada hati dan ginjal selanjutnya dianalisis dengan menggunakan uji

Kruskall-Wallis yang dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney yang dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Data Rata-rata Skor Jumlah PMN Hati dan Ginjal

No.	Kelompok	Nilai Skor Jumlah PMN	
		Hati	Ginjal
1	Kontrol	0,10 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,03 ± 0,05 <sup>a</sup>
2	Dosis 17.5 mg/kgBB	0,33 ± 0,10 <sup>b</sup>	0,21 ± 0,09 <sup>b</sup>
3	Dosis 35 mg/kgBB	0,50 ± 0,08 <sup>c</sup>	0,50 ± 0,11 <sup>c</sup>
4	Dosis 70 mg/kgBB	0,70 ± 0,11 <sup>d</sup>	1,01 ± 0,11 <sup>d</sup>
5	Dosis 140 mg/kgBB	0,88 ± 0,13 <sup>e</sup>	1,11 ± 0,13 <sup>d</sup>

Keterangan: Nilai yang diikuti dengan huruf yang berbeda menandakan perbedaan yang signifikan

Hasil uji statistik skor jumlah PMN pada hati menunjukkan bahwa

terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan

kelompok perlakuan. Hal yang sama juga terlihat pada masing-masing kelompok perlakuan. Terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok dosis 17,5 mg/kgBB, 35 mg/kgBB, 70 mg/kgBB dan 140 mg/kgBB. Pada hasil uji statistik skor jumlah PMN ginjal juga menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Terdapat perbedaan yang tidak signifikan pada kelompok dosis 70 mg/kgBB dan 140 mg/kgBB. Kelompok dosis 140 mg/kgBB memiliki rata-rata nilai skor jumlah PMN tertinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol dan juga kelompok perlakuan lainnya baik pada organ hati maupun ginjal. Hal tersebut dapat terjadi karena tingginya dosis piperin yang

diberikan pada hewan uji selama masa perlakuan.

Berdasarkan pada hasil pengamatan dan pembahasan kondisi histologi hati dan ginjal mencit setelah perlakuan menunjukkan bahwa piperin dapat menimbulkan kerusakan hati dan ginjal yang ditandai dengan meningkatnya skor kerusakan hati dan juga PMN pasca perlakuan pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kerusakan tersebut dapat meningkat seiring dengan semakin tingginya dosis dan lamanya pemberian piperin.

## **KESIMPULAN**

Piperin dosis 17,5 mg/kgBB, 35 mg/kgBB, 70 mg/kgBB dan 140 mg/kgBB secara oral pada mencit selama 21 hari menyebabkan timbulnya kerusakan hati yang

ditandai dengan meningkatnya skor kerusakan hati serta menyebabkan perubahan histopatologi hati dan ginjal pada mencit yang ditandai dengan ditemukannya sel PMN. Nilai skor kerusakan hati dan jumlah sel PMN meningkat seiring dengan semakin tingginya dosis piperin.

#### SARAN

Perlu dilakukan uji SGPT, SGOT, BUN dan serum kreatinin untuk mendapatkan informasi yang lebih akurat terkait kerusakan hati dan ginjal yang terjadi pada mencit akibat pemberian piperin.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada LP3M UMY yang telah memberikan dana hibahnya.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Bang, Jun Soo., Choi, H.M., Sur, B.J., Lim, S.J., Kim, J.Y., Yang, H.L., Kim, K.S. 2009. Anti-inflammatory and antiarthritic effects of piperine in human interleukin 1 $\beta$ -stimulated fibroblast-like synoviocytes and in rat arthritis model. *Arthritis research and therapy*. **11(2)**. R49.
2. Matsuda, H., Ninomiya, K., Moriyama, T. Yasuda, D., Yamaguchi, I., Yoshikawa, M. 2008. Protective effect of amide constituent from the fruit of *Piper chaba* on D-galactosamine/T-alpha-induced cell death in mouse hepatocytes. *Bioorg Med Chem Lett*. **18(6)**:2038-42.
3. Taqvi, S.I., Shah, A.J., Gilani, A.H. 2008. Blood pressure lowering and effects of piperin. *J Cardiovas Pharmacol*. **52(5)**. 452-458.
4. Kim, S.H., Lee, Y.C. 2009. Piperine inhibits eosinophil infiltration and airway hyper-responsiveness by suppressing T-cell activity and Th2 cytokine production in the ovalbumin-induced asthma model. *J Pharm Pharmacol*. **61(3)**. 353-359.
5. BPOM RI. 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara *In Vivo*. BPOM RI. Jakarta.

6. Cairns, D. 2004. *Intisari Kimia Farmasi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
7. Bagnis, C. 2004. Anemia and Diabetes Mellitus. *American Journal of Nephrology*
8. Price, S.A., Wilson, L.M. 2012. *Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit*. Edisi 6. EGC. Jakarta.
9. Sherwood, Lauralle. 2011. *Fisiologi Manusia*. Edisi 6. EGC. Jakarta. Singh, J.K., Anjali Singh, Tanuja., Nath, A., Kumar, Ravis. 2010. *Effect of Corn Oil As a Vehicle on Liver of Female Swiss Albino Mice Mus musculus*. The Academy of Enviromental. India.
10. Syafitri, Irene. W. 2018. *Uji Toksisitas Sub Kronik Ekstrak Labu Kuning (Cucurbita moschata) Terhadap Histologi Hepar dan Ginjal Mencit*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Yogyakarta.
11. Setiawati, A., Suyatna, F.D., Gan, S. 2007. *Pengantar Farmakologi dan Terapi 5th ed*. Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
12. Mitchell, R.N., Kumar, V., Abbas, A.K., dan Fausto, N. 2008. *Adaptasi Sel, Jejas Sel dan Kematian Sel*. Dalam: Buku Saku Dasar Patologis Penyakit. EGC. Jakarta.
13. Widyarini, M.K. 2010. *Pengaruh Pemberian Seduhan Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa) Dosis Bertingkat Selama 30 Hari Terhadap Gambaran Histologis Tikus Wistar*. Universitas Diponegoro. Semarang.
14. Tamad, F.S.U., Hidayat, Z.S. dan Sulisty, H. 2011. *Gambaran Histopatologi Hepatosit Tikus Putih Setelah Pemberian Jintan Hitam Dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 1500 mg/kgBB Selama 21 Hari (Subkronik)*. *Mandala Of Health*.
15. Amalina, N. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Valerian (Valeriana officinalis) Terhadap Hepar Mencit Balb/C*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro . Semarang.
16. Riswanto. 2013. *Pemeriksaan Lab Hematologi*. Alfamedia dan Kanal Medika. Yogyakarta.
17. Makiyah, S. N. N dan Tasminatun, Sri. 2006. *Uji Toksisitas Subkronis Ekstrak Etanolik Biji Srikaya (Annona squamosal L.) sebagai Repelan*. Mutiara Medika. Yogyakarta. Vol. 6 No. 1: 9-17.