

EFEKTIVITAS ALAT “BLACK and WHITE BOX” Pada UJI ANTIDEPRESAN TERUNG CEPOKA (*Solanum torvum* Sw.) DAN TERUNG LEUNCA (*Solanum nigrum* L.) Terhadap MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN

Lita Agustia Siswanti

Fakultas Farmasi Universitas Surabaya

litaagustia88@yahoo.com

Abstrak : Pada penelitian ini dikembangkan suatu alat uji aktivitas antidepresan *Black and White Box*. Alat tersebut terdiri dari kompartemen putih dengan ukuran 30 x 30 x 30 cm, lampu LED 12 watt dan kompartemen hitam dengan ukuran 20 x 30 x 30 cm, lampu LED 10 watt. LED berfungsi sebagai *depression maker* pada *Mus musculus* yang bersifat fotofobia. Untuk menguji efektivitas alat, digunakan obat imipramin HCl yang sudah terbukti efek antidepresannya. Digunakan 30 ekor *Mus musculus* jantan yang dibagi dalam 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol (aqua 0,5 ml), kelompok pembanding (suspensi imipramin HCl 20 mg/kg), kelompok uji 1 (*torvum* Sw. 500 mg/kg), uji 2 (*Solanum torvum* Sw. 1,5 g/kg), uji 3 (*Solanum nigrum* L. 500 mg/kg), dan uji 4 (*Solanum nigrum* L. 1,5 g/kg). Penelitian ini dilakukan pada sore hari pada pukul 16.00-19.00. Parameter yang diamati adalah waktu di kotak putih, waktu latensi, dan jumlah perpindahan. Dari analisa data yang menggunakan *one way anova* didapatkan hasil yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok pembanding membuktikan efektivitas alat dalam menguji adanya aktivitas antidepresan, dan hasil signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok uji 3 dan uji 4 yang menunjukkan bahwa tanaman tersebut memiliki aktivitas antidepresan dibandingkan dengan kelompok uji 1 dan uji 2.

Kata kunci : *Black and White Box*, *Solanum torvum* L., *Solanum nigrum* L., Antidepresan, Mencit.

Abstract : In this study have developed a test apparatus of antidepressants activity called *Black and White Box*. This apparatus consist of a white compartement with a size of 30 x 30 x 30 cm, 12 watt LED and black compartement with size of 20 x 30 x 30 cm, 10 watt LED. LED lights as inducer of anxiety in *Mus musculus* which are photophobia. To test the effectiveness of the apparatus, this study used imipramin HCl which proven as antidepressants drug. Thirty of Males *Mus musculus* are used in this experiment, then they were divide into six groups where each group received a different intervention, control group receive 0,5 ml of aqua, the comparison group received suspense of imipramin HCl 20 mg/kg, then the test group 1 (*torvum* Sw. 500 mg/kg), group 2 (*Solanum torvum* Sw. 1,5 g/kg), group 3 (*Solanum nigrum* L. 500 mg/kg), dan group 4 (*Solanum nigrum* L. 1,5 g/kg). This study done in the evening at 4.00-7.00 pm. The parameter observed in this study were long time mice in white

compartement, latency time and number of moves. From the data analyzed obtained a significant result between control group with comparison group which show that apparatus proved its effectiveness in testing their antidepressant activity and analyzed obtained a significant result between control group with group 3 and group 4 which show that they have antidepressants activity than group 1 and group 2.

PENDAHULUAN

Saat ini banyak alat uji aktivitas antidepresan yang telah dikembangkan dan tersedia di Laboratorium Farmakologi Universitas Surabaya antara lain *roda putar celup, holeboard, papan datar, elevated cross maze* dan *rotasound*. Alat-alat tersebut memiliki prinsip kerja yang berbeda dalam menginduksi depresi dan sebagian besar masih bersifat manual dalam penggunaannya. Sehingga dikembangkan pada penelitian ini alat uji aktivitas antidepresan *Black and White Box* yang lebih modern dengan beberapa keuntungan yaitu, cepat dan mudah dalam penggunaannya karena alat tersebut dirancang memiliki kamera, alat sensor dan *stopwatch*, sehingga proses pengamatan tidak perlu dilakukan secara manual karena proses pengamatannya dapat ditransmisikan pada komputer dan hasil pengamatan dapat direkam, tidak memerlukan stimulus dari luar seperti beberapa alat lain yang membutuhkan adanya media air dalam menginduksi depresi. Selain itu pengembangan alat *Black and White Box* juga berfungsi untuk menambah jumlah dan variasi alat pada laboratorium sehingga dapat dikembangkan pula metode skrining aktivitas antidepresan yang lebih mudah untuk dilakukan dan memberikan hasil yang lebih akurat. *Black and White Box* pertama kali dideskripsikan oleh *Crawley* dan *Goodwin* pada tahun 1980. Prinsip kerja alat tersebut didasarkan pada sifat alamiah hewan coba yang enggan berada pada lingkungan yang baru dan sifat fotofobia hewan coba..

Menurut *World Health Organization* tahun 2012 terdapat 1 juta atau 3000 kejadian bunuh diri akibat depresi dan di Indonesia angka kejadian nasional berdasarkan *Riset Kesehatan Dasar* tahun 2007 gangguan mental emosional pada penduduk yang berumur ≥ 15 tahun adalah 11,6%. Untuk menekan angka kejadian tersebut, diperlukan adanya terapi depresi seperti golongan antidepresan yang umum digunakan yaitu trisiklik, monoamine oxidase inhibitors (MAOIs), serotonin noreadrenalin reuptake inhibitors (SNRIs) dan selective serotonin reuptake inhibitors

(SSRIs), namun penggunaan obat sintesis tersebut masih banyak menimbulkan efek samping, seperti pada *Citizens Commission on Human Rights* tahun 2008 yang memuat laporan seperti laporan oleh *Norwegian researchers* (22 agustus 2005) yang menyatakan bahwa pasien yang menggunakan antidepresan SSRI 7 kali lebih berisiko melakukan bunuh diri dibandingkan pasien yang menggunakan placebo dan oleh *The Annals of Pharmacotherapy* (22 januari 2008) yang memaparkan tentang studi terjadinya resiko serebrovaskular terkait dengan penggunaan antidepresan dan menyatakan bahwa 24% peningkatan resiko serebrovaskular tercatat pada pasien yang menggunakan SSRI, 34% antidepresan trisiklik, dan 43% antidepresan lain. Sehingga pada penelitian ini digunakan alternatif pengobatan yang berasal dari tanaman yaitu buah terung cepoka (*Solanum torvum* Sw.) dan terung leunca (*Solanum nigrum* L.). Kedua tanaman tersebut berasal dari suku *solanaceae* yang memiliki buah dengan bentuk, ukuran dan warna yang hampir sama dan juga sama-sama digemari oleh masyarakat dan belum di budidayakan secara luas, sehingga perlu diadakan penelitian terhadap tanaman tersebut untuk mengetahui apakah tanaman yang berasal dari suku yang sama dengan kemiripan struktur fisik memiliki aktivitas yang sama dalam menimbulkan efek yang dalam penelitian ini efek yang diamati adalah efek antidepresan. Keuntungan menggunakan tanaman tersebut yaitu kedua tanaman tersebut memiliki harga yang relatif murah, mudah tumbuh didaerah yang memiliki curah hujan lebih dari 2000 mm per tahun maupun daerah yang memiliki curah hujan kurang dari 600 mm per tahun (Lim, 2013), adanya kandungan flavonoid, dimana berdasarkan pustaka flavonoid dapat mempengaruhi aktivitas enzim monoamine oksidase dimana enzim tersebut memiliki pengaruh terhadap terjadinya depresi (Jager dan Saaby, 2011).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Black and White Box* yang merupakan alat penginduksi depresi atau *depression maker*, terbuat dari bahan *acrylic* yang memiliki dua bagian kompartemen, dimana kompartemen I bewarna hitam yang

berukuran 20 cm x 30 cm x 30 cm dengan lampu merah yang intensitasnya 10 watt dan kompartemen II berwarna putih yang berukuran 30 cm x 30 cm x 30 cm dengan lampu putih yang intensitasnya 12 watt. Alat tersebut dilengkapi dengan dua buah kamera, alat sensor laser gerak yang terletak pada masing-masing kompartemen, dan juga stopwatch. Prinsip alat uji depresi tersebut adalah mengukur tingkat depresi hewan uji *Mus musculus* dengan menghubungkan sifat alamiah mencit dimana hewan tersebut termasuk hewan yang cenderung akan mengalami depresi apabila ditempatkan ditempat yang baru dan terkena cahaya karena mencit merupakan hewan uji yang bersifat fotofobia.

Alat lain yang digunakan sebagai penunjang penelitian adalah timbangan analitik, timbangan hewan, alat gelas seperti beaker glass, pengaduk kaca, labu ukur dan corong gelas, blender, kain flannel, dan sonde oral.

Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah terung cepoka (*Solanum torvum* Sw.) yang diperoleh dari perkebunan kota Banyuwangi dan terung leunca (*Solanum nigrum* L.) yang diperoleh dari pasar swalayan kota Mojokerto. Kedua jenis terung tersebut telah dideterminasi oleh Pusat Informasi dan Pengembangan Obat Tradisional (**PIPOT**) Fakultas Farmasi Universitas Surabaya. Bahan pembanding yang digunakan adalah imipramin HCl dalam bentuk sediaan tablet salut gula (Tofranil) dengan bobot tablet 70 mg \approx 25 mg Imipramin HCl dan diberikan pada hewan uji dalam bentuk suspensi dengan dosis 20 mg/kgBB. Bahan lain yang digunakan sebagai penunjang penelitian adalah aqua sebagai kontrol.

Hewan Coba

Dalam penelitian ini digunakan 30 ekor mencit putih jantan galur *Swiss Webster*, berumur 4-5 minggu dengan kisaran berat badan 20-35 gram. Mencit yang digunakan merupakan mencit yang naïf yaitu belum pernah mengalami perlakuan, dan mencit sehat yang mempunyai beberapa kriteria yaitu bulu mencit sehat tampak bersih, halus dan mengkilat, bola mata tampak kemerahan dan jernih, hidung dan mulut tidak

berlendir atau mengeluarkan air liur terus menerus, konsistensi fekesnya normal dan padat, tidak cair atau diare, hewan tampak aktif dan selalu bergerak ingin tahu.

Hewan coba tersebut diadaptasikan selama 14 hari dengan pemberian makan dan perlakuan yang sama terhadap semua hewan uji. Pakan dan minum diberikan pada mencit secara *ad libitum* (tanpa batasan atau selalu tersedia). Mencit diberikan pakan berupa *pellet* sebanyak 3gram/hari dan air mineral sebagai minuman mencit tersebut. Hewan coba tersebut dipelihara dalam kandang yang terbuat dari material kedap air, kuat dan mudah dibersihkan dan dalam satu kandang terdapat 5 ekor mencit dewasa jantan. Mencit tersebut diperoleh dari Laboraturium Farmakologi Universitas Surabaya.

Dosis Ekstrak Uji

Ekstrak uji dibuat dari masing-masing tanaman dengan masing-masing tanaman memiliki dua variasi dosis. Dosis yang digunakan adalah 500 mg/kgBB dan 1.5 g/kgBB. Rata-rata bobot mencit pada penelitian ini adalah 30 gram, jadi untuk dosis 500 mg/kgBB dapat dihitung $0,5 \text{ mg} \times 30 \text{ g} = 15 \text{ mg}$, sehingga dari dosis tersebut dapat dibuat larutan dengan konsentrasi: 15 mg dalam $0.5 \text{ ml} = 3 \text{ gram}$ dalam $100 \text{ ml} \approx 3\%$.

Untuk dosis 1,5 g/kgBB dengan rata-rata bobot mencit 30 gram dapat dihitung $1.5 \text{ mg} \times 30 \text{ g} = 45 \text{ mg}$, sehingga dari dosis tersebut dapat dibuat larutan dengan konsentrasi 45 mg dalam $0,5 \text{ ml} = 9 \text{ gram}$ dalam $100 \text{ ml} \approx 9\%$.

Pembuatan Ekstrak Uji

Ekstrak uji masing-masing dibuat dari buah segar *Solanum torvum* Sw. dan *Solanum nigrum* L. yang telah dideterminasi oleh Pusat Informasi dan Pengembangan Obat Tradisional Fakultas Farmasi Universitas Surabaya. Buah segar *Solanum torvum* Sw. ditimbang masing-masing 3 gram dan 9 gram, dan *Solanum nigrum* L. juga ditimbang masing-masing sebanyak 3 gram dan 9 gram. Buah yang telah ditimbang kemudian ditambahkan air masing-masing 100 ml dan di jus menggunakan blender kurang lebih selama 20 detik. Masing-masing hasil jus tersebut disaring dan diperas

penggunakan kain flannel sampai didapatkan volume ekstrak sebanyak 100 ml. Apabila volume ekstrak tersebut kurang dari 100 ml maka ditambahkan air pada ampas dan ampas tersebut diperas dan disaring kembali sampai dengan 100 ml, sehingga akan diperoleh 4 ekstrak uji yang terdiri dari ekstrak air *Solanum torvum* Sw. konsentrasi 3% dan 9%, dan ekstrak air *Solanum nigrum* L. konsentrasi 3% dan 9%.

Dosis Imipramin HCl

Dosis imipramin yang digunakan adalah 20 mg/kgBB. Bobot rata-rata mencit yang adalah 30 gram, sehingga dapat dihitung $\frac{30 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 0,6 \text{ mg}$. Volume suspensi imipramin HCl yang harus dibuat apabila disesuaikan dengan volume pemberian 0,5 ml adalah $\frac{0,6 \text{ mg}}{25 \text{ mg}} \times a = 0,5 \text{ ml}$, sehingga $a = 20,83 \text{ ml}$. Dikarenakan labu ukur 20,83 ml tidak tersedia, suspensi dibuat dengan labu ukur volume 50,0 ml, maka dapat dihitung $\frac{0,6 \text{ mg}}{a \text{ mg}} \times 50,0 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$, sehingga $a = 60 \text{ mg}$. Jadi 50,0 ml suspensi mengandung 60 mg imipramin HCl.

Pembuatan Suspensi Imipramin HCl

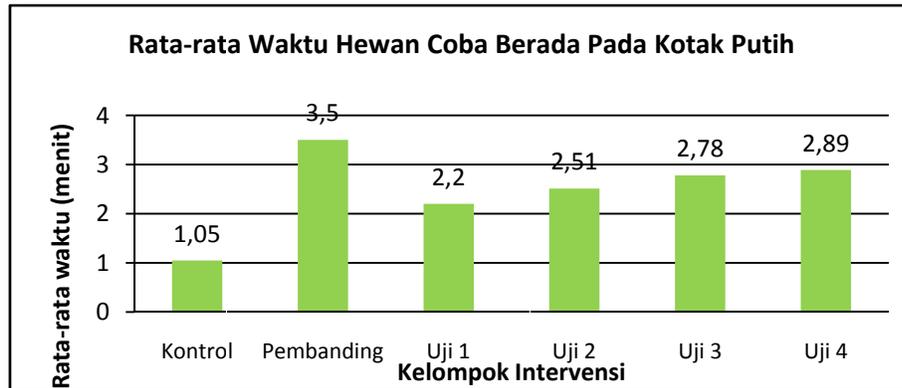
Dibuat sediaan suspensi Imipramin HCl dengan cara membuat mucilago CMC Na 0.6% dengan volume 100.0 ml, sehingga ditimbang CMC Na 0.3 gram menggunakan neraca analitik. Kemudian disiapkan mortir hangat, dan didisi air panas sebanyak 6 ml (20 kali bobot CMC Na). CMC Na yang telah ditimbang ditaburkan diatas air panas yang telah disiapkan dalam mortir kemudian didiamkan sampai CMC Na mengembang. Ditambahkan 3 ml (10 kali bobot CMC Na) aquadest, diaduk cepat sampai terbentuk mucilago. Diambil 3 tablet Tofranil, digerus dalam mortir menggunakan stamper ad halus. Ditimbang serbuk tersebut sebanyak 168 mg (setara dengan 60 mg Imipramin HCl), kemudian dimasukkan kedalam mucilago dan digerus ad homogen. Setelah homogen campuran tersebut dimasukkan kedalam labu ukur 50,0 ml dan ditambahkan aquadest ad 50,0 ml, dan dikocok ad homogen.

Prinsip Percobaan

Prinsip percobaan pada penelitian ini yaitu 30 ekor hewan coba *Mus musculus* diadaptasikan selama satu minggu pada suhu kamar dan kelembaban yang relatif konstan dengan pemberian makan dan minum ad libitum, dan perlakuan yang sama pada tiap hewan coba. Kemudian 30 ekor hewan coba dibagi dalam 6 kelompok yaitu kelompok uji 1 yaitu *Solanum torvum* Sw. dosis 500 mg/kgBB, kelompok uji 2 yaitu *Solanum torvum* Sw. dosis 1,5 g/kgBB, kelompok uji 3 yaitu *Solanum nigrum* L. dosis 500 mg/kgBB, kelompok uji 4 yaitu *Solanum nigrum* L. dosis 1,5 g/kgBB, kelompok pembanding Imipramin HCl dan kelompok kontrol, masing-masing kelompok sebanyak 5 ekor. Volume pemberian masing-masing intervensi adalah 0,5 ml secara peroral selama 8 hari berturut-turut. Setelah pemberian intervensi terakhir (hari ke 8) mencit tersebut didiamkan selama 30 menit kemudian mencit tersebut diamati jumlah mobilisasi, waktu latensi, waktu yang dihabiskan pada masing-masing kompartemen menggunakan alat uji *black and white box* selama 5 menit.

Hasil dan pembahasan

Pada penelitian ini telah dilakukan uji efektivitas alat *Black and White Box* dan uji aktivitas antidepresan tanaman terung cepoka (*Solanum torvum* Sw.) dan terung leunca (*Solanum nigrum* L.). Hewan uji yang digunakan merupakan 30 ekor mencit jantan yang terbagi dalam 6 kelompok, dimana masing-masing kelompok mendapatkan intervensi secara peroral yang berbeda yaitu kelompok kontrol diberikan air mineral sebanyak 0,5 ml, kelompok pembanding diberikan suspensi Imipramin HCl 20 mg/kg sebanyak 0,5 ml, kelompok uji 1 mendapatkan 0,5 ml ekstrak air *Solanum torvum* Sw. dengan dosis 500 mg/kg, kelompok uji 2 mendapatkan 0,5 ml ekstrak air *Solanum torvum* Sw. dengan dosis 1,5 g/kg, kelompok uji 3 mendapatkan 0,5 ml ekstrak air *Solanum nigrum* L. dengan dosis 500 mg/kg, dan kelompok uji 4 mendapatkan 0,5 ml ekstrak air *Solanum nigrum* L. dengan dosis 1,5 g/kg. Penelitian ini dilakukan pada pukul 16.00-19.00. Data yang diperoleh dari penelitian ini berupa lama waktu yang dihabiskan pada kotak putih, waktu latensi, dan jumlah perpindahan hewan coba.



Gambar 1. Grafik rata-rata waktu hewan coba pada kotak putih

Dari data kotak putih didapatkan rata-rata waktu 3,50 menit untuk pembanding dan 1,05 menit untuk kontrol. Setelah dianalisa menggunakan metode *Oneway Anova* dan dilanjutkan dengan uji LSD terdapat perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) antara dua kelompok tersebut.

Sedangkan analisa uji aktivitas antidepresan rata-rata waktu yang didapat pada kotak putih yaitu 2,20 menit pada kelompok uji 1 (*Solanum torvum* Sw. 500 mg/kg), 2,51 menit pada uji 2 (*Solanum torvum* Sw. 1,5 g/kg), 2,78 menit pada uji 3 (*Solanum nigrum* L. 500 mg/kg) dan 2,89 menit pada uji 4 (*Solanum nigrum* L. 1,5 g/kg). Setelah dianalisa menggunakan metode *Oneway Anova*, terdapat perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) antara kelompok uji 3 dan uji 4 apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol.

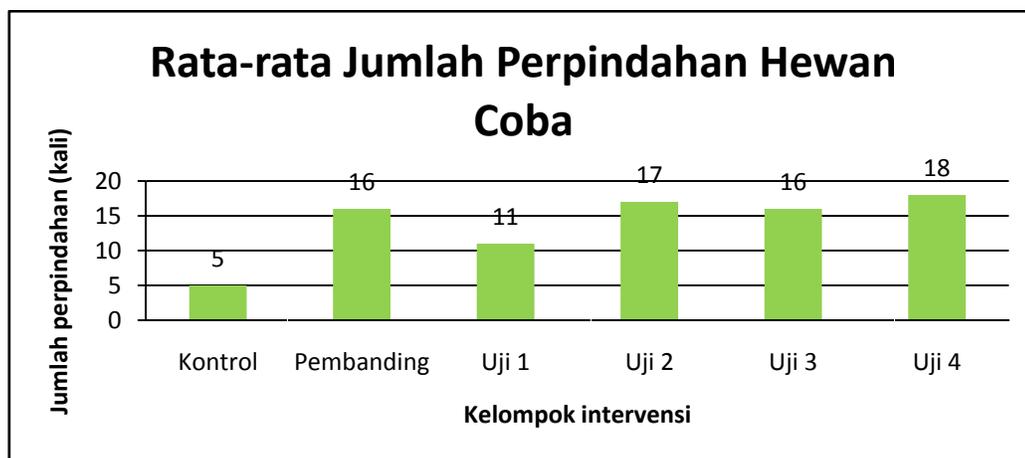
Tabel 1. Data Hasil Uji Anova Kotak Putih

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between groups	17,692	5	3,538	4,452	0,005
Within groups	19,073	24	0,795		
Total	36,764	29			

Tabel 2. Data Hasil Uji LSD Kotak Putih

	Pembanding	Uji1	Uji2	Uji3	Uji4
Kontrol	0,000	0,057	0,160	0,049	0,003
Pembanding		0,028	0,008	0,033	0,296
Uji1			0,590	0,941	0,218

Uji2				0,541	0,82
Uji3					0,245



Gambar 2. Grafik rata-rata jumlah perpindahan hewan coba

Pada analisa uji efektivitas alat dilihat dari data jumlah perpindahan dapat diketahui rata-rata yang didapatkan kelompok pemanding sebanyak 16 kali perpindahan, dan kelompok kontrol sebanyak 5 kali. Setelah dianalisa menggunakan metode *Oneway Anova* dan dilanjutkan dengan uji LSD terdapat perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) antara kedua kelompok tersebut.

Sedangkan pada analisa uji aktivitas antidepresan dari data jumlah perpindahan dapat diketahui rata-rata yang didapatkan oleh kelompok uji 1 yaitu 11 kali, uji 2 sebanyak 17 kali, uji 3 sebanyak 16 kali, dan uji 4 sebanyak 18 kali. Setelah dianalisa menggunakan metode *Oneway Anova*, dan dilanjutkan dengan uji LSD terdapat perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) antara kelompok uji 2, uji 3 dan uji 4 apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol.

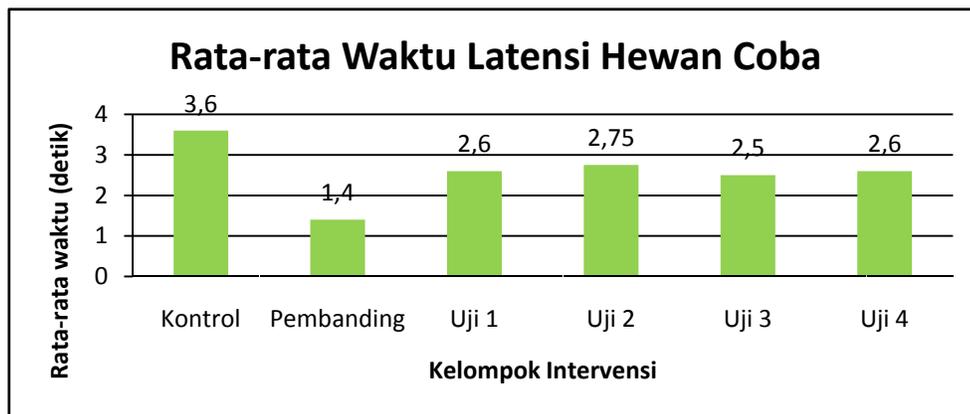
Tabel 3. Data Hasil Anova Jumlah Perpindahan

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between groups	538,700	5	107,740	3,968	0,009
Within groups	651,600	24	27,150		
Total	1190,300	29			

Tabel 4. Data Hasil Uji LSD jumlah Perpindahan

	Pemanding	Uji1	Uji2	Uji3	Uji4
Kontrol	0,003	0,072	0,018	0,020	0,000

Pembanding		0,158	0,438	0,404	0,438
Uji1			0,511	0,550	0,034
Uji2				0,952	0,128
Uji3					0,115



Gambar 3. Grafik rata-rata waktu latensi hewan coba

Pada analisa uji efektivitas alat, dapat diketahui bahwa rata-rata waktu latensi pada kelompok kontrol yaitu 3,6 detik, sedangkan pada kelompok pembanding sebesar 1,4 detik. Setelah dianalisa menggunakan uji *Anova one way* data normalitas menunjukkan bahwa $p < 0,05$ yang berarti data tidak terdistribusi dengan normal, sehingga data tersebut dianalisa menggunakan uji *non parametric Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. Setelah dianalisa menggunakan kedua uji tersebut terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok pembanding dan kontrol yaitu $p < 0,05$.

Sedangkan pada analisa data uji aktivitas antidepresan dapat diketahui rata-rata waktu latensi pada kelompok uji 3 lebih singkat dibandingkan kelompok uji 1, uji 2, dan uji 4 yaitu 2,5 detik dibandingkan dengan 2,6 detik, 2,75 detik, dan 2,6 detik. Setelah dianalisa menggunakan metode *non parametric* terdapat perbedaan yang signifikan yaitu $p < 0,05$ antara kelompok uji 3 dan kelompok uji 4 dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Tabel 5. Data Hasil Analisa *Kruskal-Wallis* Waktu Latensi

	Waktu latensi
Chi-square	13,629
df	5

Asymp. Sig.	0,018
-------------	-------

Tabel 6. Data Hasil Uji *Mann Whitney* Waktu Latensi

	Pembanding	Uji1	Uji2	Uji3	Uji4
Kontrol	0,007	0,058	0,059	0,033	0,033
Pembanding		0,020	0,159	0,228	0,118
Uji1			0,811	0,419	0,419
Uji2				0,650	0,735
Uji3					0,911

KESIMPULAN

Pada penelitian ini hasil dikatakan positif memiliki efek antidepresan jika memenuhi 2 parameter uji, sehingga dapat disimpulkan:

1. Alat *Black and White Box* dapat digunakan untuk menguji aktivitas antidepresan.
2. Ekstrak uji yang memiliki aktivitas antidepresan yaitu ekstrak air *Solanum nigrum* L. dosis 500 mg/kgBB dan 1,5 g/kgBB.

SARAN

1. Perlu dilakukan modifikasi pada dasar alat *Black and White Box* agar memudahkan saat dibersihkan setelah alat tersebut digunakan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap *Solanum torvum* Sw. dan *Solanum nigrum* L. guna mengetahui dengan pasti perbedaan dan kadar komponen kimia yang memiliki aktivitas sebagai antidepresan.

DAFTAR PUSTAKA

- Arif Muhammad, Fareed Sheeba, 2011, Pharmacognostical Studies and Evaluation of Total Phenolic and Flavonoid Contents of Traditionally Utilized Fruit of *Solanum torvum* Sw, Indian Journal of Natural Products and Resources, 2(2): 218-224.
- Bourin Michel, Hascoet Martine, 2003, The Mouse Light/Dark Box Test. European Journal of Pharmacology 463: 55-65.
- Citizens Commission on Human Rights International, 2008, The Side Effects of Common Psychiatric Drugs, (online), (<http://www.cchr.org>. diakses 08-10-2015)

Committee on Rodents, Institute of Laboratory Resources, Commission on Life Science, National research Council, 1996, Rodents, (online), (<http://www.nap.edu/catalog/2119.htm> diakses 07-09-2015)

Lim T.K, 2013, *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*, volume 6, Springer Science Business Media Dordrecht, 1.

Jager Anna K, Saaby Lasse, 2011, Flavonoid and The CNS. *Molecules* 16(2011): 1471-1485, (online), (www.mdpi.com diakses 29-09-2015)

Riset Kesehatan Dasar, 2007, Laporan Nasional 2007, vii.

WHO Departement of Mental Health and Substance Abuse, 2012, *Depression*, 6.