

# **Profil Penurunan Kadar Glukosa Darah Ekstrak Air Rambut Jagung (*Zea Mays L.*) Tua dan Muda Pada Mencit Jantan Galur Balb-C**

\*Finlinda Hery Ramadani, Difa Intannia, Malikhatun Ni'mah

Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat

\*Email: finlindahr@gmail.com

## **ABSTRAK**

Rambut jagung mengandung flavonoid. Kandungan total flavonoid dipengaruhi oleh usia tanaman. Flavonoid memiliki potensi sebagai antihiperglikemia. Penelitian bertujuan untuk melihat profil penurunan kadar glukosa darah ekstrak air rambut jagung tua dan muda pada mencit jantan galur Balb-C yang diinduksi aloksan. Penelitian bersifat eksperimental dengan rancangan *posttest only control group design*. Ekstrak dibuat dengan merebus rambut jagung menggunakan air selama 30 menit. Total flavonoid ditentukan dengan metode AlCl<sub>3</sub>. Aktivitas penurunan kadar glukosa darah dilakukan dengan metode tes toleransi glukosa oral terhadap mencit jantan galur Balb-C yang diinduksi aloksan secara intraperitoneal (140 mg/kgBB). Sebanyak 20 hewan uji dibagi menjadi kelompok kontrol positif (Akarbose 0,1305 mg/20 gBB), kontrol negatif (NaCMC 1%), ekstrak air rambut jagung tua (200 mg/kgBB) dan ekstrak air rambut jagung muda (200 mg/kgBB) yang diberi perlakuan secara oral. Kadar glukosa darah diukur pada menit ke 0, 30, 60, 90, 120, 150, dan 180 pasca pembebanan glukosa oral. Data persen penurunan kadar glukosa darah dianalisis dengan uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Persen penurunan kadar glukosa darah ekstrak air rambut jagung tua dan muda tidak berbeda bermakna ( $p>0,10$ ). Ekstrak air rambut jagung muda menurunkan kadar glukosa darah sejak menit ke-90 pasca pemberian glukosa oral dengan persen penurunan sebesar  $44,55 \pm 4,92\%$ . Sedangkan ekstrak air rambut jagung tua menurunkan kadar glukosa darah sejak menit ke-120 pasca pemberian glukosa oral dengan persen penurunan sebesar  $30,15 \pm 7,25\%$ .

**Kata kunci:** rambut jagung tua, rambut jagung muda, flavonoid, kadar glukosa darah

## **ABSTRACT**

Corn silk contained flavonoid. Total flavonoid content could be influenced by ages of the plant. Flavonoid has potential effect as anti-hyperglycemia. The purpose of this study was to observe lowering blood glucose levels profile of mature and immature corn silk extract on male mice Balb-C strain. This is an experimental study with posttest

only control group design. Aqueous extract was prepared by boiling corn silk with water for 30 minutes. Total flavonoid content was determined by AlCl<sub>3</sub> method. Lowering blood glucose levels activity was determined by oral glucose tolerant test method on alloxan induced male Balb-C mice test animals intraperitonialy (140 mg/kgBB). The 20 test animals were divided into positive control group (Acarbose 50 mg/70kgBB), negative control group (NaCMC 1%), mature aqueous corn silk extract group (200 mg/kgBB), and immature aqueous corn silk extract group (200 mg/kgBB) given orally. Blood glucose levels were measured at 0, 30, 60, 90, 120, 150, and 180 minutes after the glucose load. Percentage of lowering blood glucose levels were analyzed by Kruskal Wallis and continued by Mann Whitney test. Percentage of lowering blood glucose levels of mature and immature aqueous corn silk extract was not significantly different. Immature aqueous corn silk extract was lowering blood glucose since 90 minute after the glucose load by  $44,55 \pm 4,92\%$ . Whereas mature aqueous corn silk extract was lowering blood glucose since 120 minute after the glucose load by  $30,15 \pm 7,25\%$ .

**Key word:** mature corn silk, immature corn silk, flavonoid, blood glucose levels

## I. PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah suatu kelompok kelainan metabolisme yang disebabkan karena pankreas tidak dapat memproduksi insulin dalam jumlah yang cukup atau saat tubuh tidak mampu menggunakan insulin secara efektif sehingga ditandai dengan hiperglikemia (Wells *et al.*, 2009). *International Diabetes Federation* melaporkan sekitar 382 juta orang menderita diabetes pada tahun 2013 dan diperkirakan akan mencapai 592 juta penderita pada tahun 2035 atau mengalami peningkatan sebesar 55%. Indonesia menempati urutan ke-7 penderita diabetes tertinggi di dunia, yaitu mencapai 8,5 juta penderita pada tahun 2013 (IDF, 2013).

Obat bahan alam di era moderen banyak digunakan sebagai alternatif dalam pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit. Obat bahan alam memiliki kelebihan dibandingkan obat sintesis yaitu mampu saling bersinergisme antar senyawa yang terkandung di dalamnya (*synergy effects*) (Bone & Mills, 2013). Salah satu bahan alam yang digunakan dalam mengobati diabetes adalah rambut jagung. Rambut jagung mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, saponin, tanin, flobatanin, fenol, alkohol, terpenoid, dan glikosida (Sholihah *et al.*, 2012). Rambut jagung memiliki kemampuan dalam pengobatan diabetes karena mampu meningkatkan *up-take* glukosa ke jaringan (Ghada *et al.*, 2014). Penelitian lain juga mendukung

kemampuan rambut jagung dalam menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan konsentrasi insulin di dalam darah (Guo *et al.*, 2009).

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bahan tanaman bervariasi. Variasi kandungan senyawa metabolit sekunder akan mempengaruhi aktivitas farmakologis. Salah satu faktor utama yang mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman yaitu usia tanaman (Ferry *et al.*, 2009). Berdasarkan hal tersebut peneliti ingin mengetahui pengaruh rambut jagung muda dan tua terhadap kemampuan rambut jagung dalam menurunkan kadar glukosa darah.

## II. BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain rambut jagung tua, rambut jagung muda, aquadest, kertas saring, etanol p.a (Merck), HCl pekat, plat silika 60 GF 254, kuersetin (Sigma), AlCl<sub>3</sub> 10% p.a (Sigma), asam asetat glacial 5% p.a, FeCl<sub>3</sub> 3%, Pb asetat 10%, NaOH, amonia, gelatin, pakan dan minuman mencit, glukosa monohidrat p.a. (Merck), aloksan monohidrat (Sigma), larutan NaCl 0,9%, Na-CMC, tablet akarbose (Glucobay ®).

### A. Ekstraksi dan Identifikasi

Rambut jagung diperoleh dari petani jagung di Landasan Ulin

Kalimantan Selatan. Rambut jagung muda yang digunakan berasal dari jagung dengan usia 40 hari, dan rambut jagung tua yang digunakan berasal dari jagung dengan usia 60 hari. Rambut jagung tua dan muda yang digunakan berasal dari tanaman yang sama. Rambut jagung dikeringkan dengan cara kering angin selama satu minggu kemudian diserbu menggunakan blender. Ekstraksi dilakukan dengan merebus 80 gram serbuk rambut jagung selama 30 menit menggunakan akuades (1:15). Pelarut kemudian diuapkan menggunakan *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian diidentifikasi kandungan senyawanya.

### B. Penentuan Total Flavonoid

Sebanyak 1 mL larutan sampel 10.000 ppm ditambah dengan 1 mL AlCl<sub>3</sub> 2% dan 8 mL asam asetat 5% kemudian didiamkan selama 15 menit. Absorbansi larutan sampel dibaca pada panjang gelombang 415 menggunakan spektfotometer UV-Vis. Kurva baku ditentukan menggunakan larutan kuersetin dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm dengan perlakuan yang sama. Kandungan total flavonoid dinyatakan dalam %b/b.

### C. Uji Penurunan Kadar Glukosa Darah

Mencit diadaptasikan selama 14 hari dalam kendang serta diberi makanan dan minuman secara *ad libitum*. Mencit dipuaskan selama 16 jam kemudian diinjeksi larutan aloksan dalam larutan garam fisiologis secara intraperitoneal dengan dosis 140 mg/kgBB. Sampel darah diambil dari ekor mencit setelah 48 jam dan diukur kadar glukosa darah menggunakan glukometer. Subjek dipilih dengan kadar glukosa darah lebih dari 200 mg/dL.

Mencit dibagi menjadi 4 kelompok dengan masing-masing kelompok berjumlah 5 ekor. Pembagian kelompok antara lain, kontrol negatif (NaCMC 1%), kontrol positif (akarbose 0.1305 mg/20gBB), dan kelompok perlakuan (ekstrak air rambut jagung tua dan muda 200 mg/kgBB). Masing-masing kelompok kemudian diberikan larutan glukosa 2g/kgBB 1 jam setelah perlakuan. Perlakuan diberikan secara per oral. Sampel darah kemudian diambil dari vena di ekor mencit setiap 30 menit selama 180 menit dan dianalisis dengan glukometer.

### D. Pengumpulan Dan Pengolahan Data

Data kadar glukosa darah yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan SPSS. Analisis yang

digunakan adalah uji *one way* ANOVA dengan memperhatikan homogenitas dan normalitas data. Jika memenuhi syarat, dapat diteruskan dengan uji *one way* ANOVA, jika tidak memenuhi syarat maka digunakan uji alternatif dengan uji Kruskal-Wallis.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 80 gram serbuk rambut jagung dididihkan dalam 1200 ml akuades selama 30 menit. Rendemen yang diperoleh untuk ekstrak air rambut jagung tua dan muda berturut-turut sebesar 11,40 % dan 36,27 %. Hasil identifikasi fitokimia ekstrak air rambut jagung dapat dilihat pada tabel I.

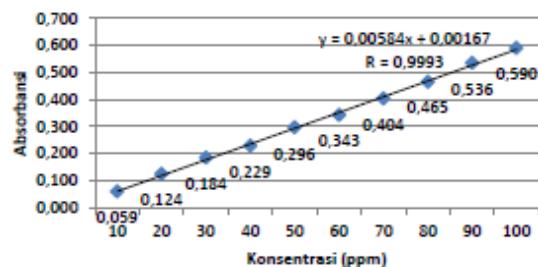
**Tabel I.** Hasil identifikasi fitokimia ekstrak air rambut jagung

| Senyawa   | Pengujian               | Hasil   | Ket |
|-----------|-------------------------|---|-----|
| Flavonoid | Pb asetat<br>NaOH + HCl | Terdapat endapan putih<br>Larutan kuning kemudian warna memudar | +   |
| Alkaloid  | Dragendorff<br>Mayer    | Endapan merah<br>Endapan kuning                                 | +   |
| Saponin   | Akuades                 | Terbentuk busa yang stabil                                      | +   |
| Tanin     | Gelatin                 | Endapan putih   | +   |
| Fenol     | FeCl <sub>3</sub>       | Larutan hijau kehitaman   | +   |

Penentuan kadar total flavonoid ekstrak air rambut jagung dilakukan dengan metode kolorimetrik menggunakan AlCl<sub>3</sub> dengan prinsip pembentukan kompleks antara AlCl<sub>3</sub> dengan C-4 pada gugus keto dan C-3 atau C-5 gugus hidroksi yang dimiliki oleh flavonoid (Pallab *et al.*, 2013).

Kadar total flavonoid ditentukan dengan terlebih dahulu membuat kurva

baku kuersetin dengan 10 seri kadar yang digunakan sebagai pembanding ekivalen flavonoid sehingga kadar total flavonoid dapat ditentukan dan dianggap ekivalen dengan kuersetin. Persamaan yang diperoleh dari kurva baku kuersetin adalah  $Y = 0,00584x + 0,00167$  dengan koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,999 yang menunjukkan bahwa 99,9% terdapat korelasi antara konsentrasi dengan absorbansi



**Gambar 1.** Grafik hubungan konsentrasi dengan absorbansi kurva baku kuersetin

Kadar total flavonoid ekstrak air rambut jagung tua sebesar  $0,7241 \pm 0,0158$  mg/100 mg, sedangkan ekstrak air rambut jagung muda sebesar  $0,7712 \pm 0,0073$  mg/100 mg. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak air rambut jagung muda memiliki kandungan total flavonoid lebih tinggi secara bermakna dibandingkan ekstrak air rambut jagung tua. Hasil perhitungan kadar total flavonoid ekstrak air rambut jagung tua dan muda dapat dilihat pada tabel II.

**Tabel II.** kadar total flavonoid ekstrak air rambut jagung tua dan muda

| Ekstrak            | Kadar total flavonoid (mg/100mg ekstrak) | $\bar{x} \pm SD$    | RSD (%) |
|--------------------|--|---------------------|---------|
| Rambut jagung tua  | 0,7188<br>0,7410                         | $0,7241 \pm 0,0158$ | 2,1778  |
| Rambut jagung muda | 0,7821<br>0,7718                         | $0,7712 \pm 0,0073$ | 0,9445  |

Uji aktivitas penurunan kadar glukosa darah dilakukan untuk melihat profil penurunan kadar glukosa darah ekstrak air rambut jagung tua dan muda. Pengujian dilakukan menggunakan metode tes toleransi glukosa oral. Mencit dibuat hiperglykemi melalui induksi aloksan kemudian diberikan perlakuan. Glukosa diberikan 1 jam setelah perlakuan dan kadar glukosa diukur pada menit ke-0, 30, 60, 90, 120, 150, dan 180. Hasil rata-rata kadar glukosa darah ditunjukkan pada tabel III.

**Tabel III.** Rata-rata kadar glukosa darah hewan uji metode tes toleransi glukosa oral

| Waktu (menit) | Kadar glukosa darah (mg/dL) ( $\bar{x} \pm SEM$ ) |                     |                                       |  |
|---------------|---|---------------------|---------------------------------------|--|
|               | kontrol negatif                                   | kontrol positif     | ekstrak rambut jagung tua 200 mg/kgBB | ekstrak rambut jagung muda 200 mg/kgBB |
| 0             | $423,2 \pm 20,55$                                 | $395 \pm 61,02$     | $352,4 \pm 50,04$                     | $402,2 \pm 35,00$                      |
| 30            | $439,4 \pm 32,98$                                 | $429,2 \pm 26,35$   | $452 \pm 42,39$                       | $491,4 \pm 16,35$                      |
| 60            | $406,4 \pm 14,88$                                 | $353 \pm 45,82$     | $412 \pm 39,27$                       | $426,2 \pm 21,98$                      |
| 90            | $390,4 \pm 18,83$                                 | $326,2 \pm 42,13$   | $374 \pm 52,54$                       | $361,2 \pm 27,41$                      |
| 120           | $393 \pm 19,57$                                   | $296 \pm 47,62$     | $325,8 \pm 48,10$                     | $312,8 \pm 24,33$                      |
| 150           | $365,6 \pm 16,89$                                 | $262 \pm 44,63$     | $289,2 \pm 45,15$                     | $246,8 \pm 17,89$                      |
| 180           | $338,6 \pm 13,60^a$                               | $221,4 \pm 46,22^b$ | $246 \pm 45,13^b$                     | $220,8 \pm 23,25^b$                    |

Ket: a dan b pada baris yang sama menunjukkan perbedaan bermakna ( $p \leq 0,1$ )

Kadar glukosa darah mencit menunjukkan peningkatan hingga mencapai kadar puncak pada menit ke 30 setelah pembebanan glukosa oral dan berangsut menurun hingga menit ke 180. Kadar glukosa darah kelompok kontrol negatif menunjukkan perbedaan bermakna terhadap semua kelompok pada menit ke 180.

Kemampuan bahan uji untuk menurunkan kadar glukosa darah dapat

dihitung dengan membandingkan kadar glukosa darah akhir terhadap kadar glukosa awal. Rata-rata persen penurunan kadar glukosa darah dapat dilihat pada tabel IV.

**Tabel IV.** Rata-rata persen penurunan kadar glukosa darah

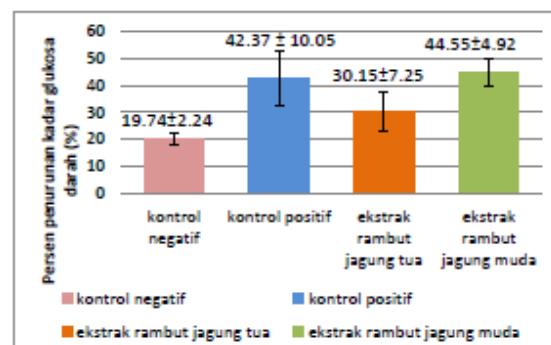
| Waktu (menit) | Persen penurunan kadar glukosa darah (%) $(\bar{x} \pm SEM)$ |                            |                                       |  |
|---------------|--|----------------------------|---------------------------------------|--|
|               | Kontrol negatif  | Kontrol positif            | Ekstrak rambut jagung tua 200 mg/KgBB | Ekstrak rambut jagung muda 200 mg/KgBB |
| 30            | -3,55 ± 5,32   | -16,17 ± 12,69             | -33,96 ± 12,01                        | -24,97 ± 8,69                          |
| 60            | 3,58 ± 2,90  | 5,25 ± 13,04               | -21,06 ± 8,52                         | -7,42 ± 4,45                           |
| 90            | 7,66 ± 2,03  | 11,67 ± 12,52              | -7,76 ± 8,19                          | 9,77 ± 2,68                            |
| 120           | 6,38 ± 5,99  | 17,96 ± 14,10              | 7,62 ± 4,01                           | 21,73 ± 3,53                           |
| 150           | 13,24 ± 3,63 <sup>b</sup>                                    | 30,33 ± 10,55              | 18,57 ± 4,37 <sup>b</sup>             | 37,82 ± 3,98 <sup>a</sup>              |
| 180           | 19,74 ± 2,24 <sup>b</sup>                                    | 42,37 ± 10,05 <sup>a</sup> | 30,15 ± 7,25                          | 44,55 ± 4,92 <sup>a</sup>              |

Ket: a dan b pada baris yang sama menunjukkan perbedaan bermakna ( $p \leq 0,1$ )

Tabel IV menunjukkan ada perbedaan bermakna antara kelompok ekstrak air rambut jagung tua dan kelompok kontrol negatif terhadap kelompok ekstrak air rambut jagung muda pada menit ke-150. Sedangkan kelompok kontrol positif tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada semua kelompok. Persen penurunan kadar glukosa darah pada menit ke-180 menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dan ekstrak rambut jagung muda terhadap kelompok kontrol negatif. Persen penurunan kadar glukosa darah kelompok ekstrak air rambut jagung muda tidak berbeda bermakna terhadap persen penurunan kadar glukosa darah kelompok kontrol positif. Sedangkan penurunan kadar glukosa darah ekstrak air rambut

jagung tua tidak berbeda bermakna terhadap semua kelompok.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, ekstrak air rambut jagung tua dan muda memiliki profil penurunan kadar glukosa darah yang berbeda meskipun kemampuan menurunkan kadar glukosa darah ekstrak air rambut jagung tua dan muda tidak berbeda bermakna. Ekstrak air rambut jagung muda mampu menurunkan kadar glukosa darah pada menit ke-90, sedangkan ekstrak air rambut jagung tua menurunkan kadar glukosa darah pada menit ke-120 pasca pembebanan glukosa oral. Diagram batang persen penurunan kadar glukosa darah pada menit ke-180 ditunjukkan oleh gambar 2.



**Gambar 2.** Diagram batang persen penurunan kadar glukosa darah pada menit 180

Aktivitas penurunan kadar glukosa darah ekstrak air rambut jagung berkaitan dengan kandungan fitokimia yang dimiliki rambut jagung, salah satunya adalah flavonoid. Kandungan total flavonoid ekstrak air rambut jagung tua dan muda menunjukkan perbedaan bermakna. Tetapi

aktivitas penurunan kadar glukosa darah ekstrak air rambut jagung tua dan muda tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna. Hal ini dapat disebabkan karena di dalam ekstrak air rambut jagung tidak hanya terdapat flavonoid, melainkan juga metabolit sekunder lainnya seperti saponin, alkaloid, tanin, dan fenol. Masing-masing senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki kemampuan dalam menurunkan kadar glukosa darah melalui berbagai mekanisme.

Flavonoid menurunkan kadar glukosa darah dengan cara menghambat pemecahan karbohidrat menjadi glukosa dan menghambat absorpsi glukosa di usus halus, menstimulasi sekresi insulin oleh sel  $\beta$  pankreas, mengaktifkan reseptor insulin, dan memperbaiki sel  $\beta$  pankreas yang rusak melalui aktivitas antioksidan (Hanhinefa, 2010). Flavonoid juga mampu meningkatkan *uptake* glukosa dengan peningkatan ekspresi GLUT 4 dan aktivitas PI3K (Hajiaghaalipour *et al.*, 2015). Saponin dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan sekresi insulin, meningkatkan *uptake* glukosa dan menghambat penyerapan glukosa di usus halus. Alkaloid mampu menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase sehingga menurunkan penyerapan glukosa dengan menghambat pemecahan karbohidrat menjadi glukosa. Selain itu alkaloid juga mampu meningkatkan *uptake*

glukosa dengan meningkatkan translokasi GLUT 4. Tanin dan fenol merupakan senyawa fenolik yang mampu berinteraksi dengan protein dan mampu menghambat aktivitas enzimatik. Hal ini membuat tanin dan fenol mampu menghambat pemecahan karbohidrat menjadi glukosa sehingga menurunkan penyerapan glukosa ke dalam darah. Selain itu, senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan sehingga mampu memperbaiki sel  $\beta$  pankreas dan meningkatkan sekresi insulin (Arif *et al.*, 2014).

#### **IV. KESIMPULAN**

Ekstrak air rambut jagung muda menurunkan kadar glukosa darah sejak menit ke-90 pasca pembelahan glukosa oral dengan persen penurunan kadar glukosa darah sebesar  $44,55\pm4,92\%$ . Sedangkan ekstrak air rambut jagung tua menurunkan kadar glukosa darah sejak menit ke-120 pasca pembelahan glukosa oral dengan persen penurunan kadar glukosa darah sebesar  $30,15\pm7.25\%$ .

#### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih atas segala bantuan dan dukungan kepada PT. Indofood Sukses Makmur Tbk. yang telah membantu pendanaan penelitian ini melalui program Indofood Riset Nugraha,

## DAFTAR PUSTAKA

- Arif, T., B. Sharma, A. Gahlaut, V. Kumar, R. Dabur. 2014. Anti Diabetic Agents From Medicinal Plants: A review. *Chem Bio Lett.* **1**: 1-13.
- Bone, K. & S. Mills. 2013. *Modern Herbal Medicine: Principles and Practice of Phytotherapy 2<sup>nd</sup> Edition.* Elsevier, USA.
- Ferry, Y., E. T., Bambang & E. Randriani. 2009. Pengaruh Intensitas Cahaya dan Umur Panen terhadap Pertumbuhan, Produksi, dan Kualitas Hasil Temulawak di Antara Tanaman Kelapa. *Bul. Littro.* **20**: 131-140.
- Ghada, M., M. S. Eltohami, H. N. Adurahman, M. M. E. Mudawi. 2014. In Vitro Study of The Effect of Corn Silk on Glucose Uptake by Isolated Rat Hemi-Diaphragm. *World Journal of Pharmaceutical Research.* **3**: 2190-2195.
- Guo, J., T. Liu, L. Han, & Y. Liu. 2009. The Effect of Corn Silk on Glycaemic Metabolism. Nutrition & Metabolism. *BioMed Central.*
- Hajiaghaalipour, F., M. Khalilpourfarshbafi, & A. Arya. 2015. Modulation of Glucose Transporter Protein by Dietary Flavonoids in Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Biological Science.* **5**: 508-524
- Hanhinefa,K., R. Torronen, I. Bondia-Pons, J. Pekkinen, M. Kolehmainen, H. Mykkanen, & K. Poutanen. 2010. Impact of Dietary Carbohydrate Metabolism. *Int J Mol Sci.* **11**:1365-1402.
- IDF. 2013. *IDF Diabetes Atlas 6<sup>th</sup> Edition.* International Diabetes Federation.
- Pallab, K., B. Tapan., P. Tapas, K. Ramen. 2013. Estimation of Total Flavonoids Content (TFC) and Antioxidant Activities of Methanolic Whole Plant Extract of *Biophytum sensitivum* Linn.
- Journal of Drug Delivery & Therapeutics.* **4**: 33-37.
- Solihah, M.A., W.I.W. Rosli, & N. A. Rahman. 2012. Phytocemical Screening and Total Phenolic Content of Malaysian Zea Mays Hair Extracts. *International Food Research Journal.* **4**: 1533-1538.
- Wells, B.G., J.T. Dipiro, T.L. Schwinghammer, C.V. Dipiro. 2009. *Pharmacotherapy Handbook 7<sup>th</sup> Edition.* McGraw Hill, New York.