

Kajian Subkronik 28 Hari Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* terhadap Kadar *Creatine Phosphokinase* Tikus Betina

A Subchronic 28 Days Study of Metanolic Extract Scurrula atropurpurea to Creatine Phosphokinase Levels of Female Rats

Mohammad Mabru^{1*)}, Nour Athiroh^{2**)}
¹²³Department of Biology FMIPA UNISMA, Indonesia

ABSTRAK

Tanaman benalu teh (*Scurrula atropurpurea* Bl. Dans.) merupakan tanaman parasit yang hidup mengganggu pada tanaman teh. *Scurrula atropurpurea* Bl. Dans memiliki banyak kandungan senyawa aktif salah satunya yaitu Flavonoid seperti *quersetin* yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit. Enzim *Creatine Phosphokinase* (CPK) merupakan salah satu parameter biokimia klinis yang digunakan untuk mengetahui keamanan sediaan uji terutama dalam uji subkronik terutama pada keadaan jantung, karena enzim CPK sebagai *cardiac biomarker*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar CPK pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) betina setelah dipapari Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* Bl. Dans. (EMSA) secara sub-kronik selama 28 hari. Penelitian ini adalah *True Experimental Design* dengan Rancangan Acak Lengkap. Tikus yang digunakan ada 20 ekor dengan kelamin betina dibagi menjadi 4 perlakuan dengan perlakuan I sebagai kontrol dan tiga perlakuan dipapari EMSA dengan dosis 250, 500, dan 1000 mg/KgBB 5 kali seminggu. Setelah 28 hari tikus dibedah dan dianalisis kadar enzim CPK, selanjutnya data yang didapat dianalisis menggunakan spss14. Menggunakan uji ANOVA. Hasil analisis uji ANOVA menunjukkan bahwasanya kadar CPK perlakuan tidak berbeda nyata dengan kontrol karena nilai sig 0,449 lebih dari 0,05 hal ini berarti EMSA tidak berpengaruh terhadap kadar enzim CPK serum tikus betina dan tidak ada efek toksik yang ditimbulkan sehingga EMSA dinyatakan aman secara uji sub-kronik. Nilai kadar enzim CPK perlakuan yang mendekati nilai kontrol yaitu dosis 250 mg/KgBB sehingga kami merekomendasikan dosis tersebut.

Kata kunci : EMSA, CPK, Toksisitas Sub-kronik.

ABSTRACT

Tea parasite plants (*Scurrula atropurpurea* Bl. Dans.) are parasitic plants that live disrupt in tea plant. *Scurrula atropurpurea* Bl. Dans have many active compound content one of them is Flavonoid like *quersetin* which can be recovered various diseases. CPK enzyme is one of the clinical biochemical parameters was used determine the safety of test preparations, especially in subchronic in test heart condition, because the enzyme CPK as *cardiac biomarker*. The purpose this study was to determine the level of CPK in female wistar rats (*Rattus norvegicus*) after being exposed Metanolic Extract *Scurrula atropurpurea* Bl. Dans. (EMSA) is subchronically 28 days. This research is *True Experimental Design* with Completely Randomized. The rats be used were 20 with female genitals were divided into 4 Treatments with Treatment1 control and three Treatments were exposed to EMSA with doses 250, 500, and 1000 mg / KgBW 5 times a week. After 28 days rats be dissected and analyzed levels of CPK enzymes, then the data obtained were analyzed using spss14. It used ANOVA test. ANOVA test results showed that the CPK content of treatment was not significantly different from the controls because the sig value 0.449 more than 0.005 this means that EMSA did not affect the serum CPK enzyme level of female rats and no toxic effect was caused so that EMSA was declared safe by sub-chronic test. The value of the CPK enzyme level of treatment was approaching the control value is 250 Mg / KgBW dose so we recommend the dose.

Keywords: EMSA, CPK, Sub-Chronic Toxicity.

^{1*)} Mohammad Mabru, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA. Jl. MT. Haryono 193, Malang 65144 Tlp. 085881624977 email: aqwjaka35@gmail.com

^{2**)} Dr. Nour Athiroh AS S.Si., M.Kes, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA. Jl. MT. Haryono 193, Malang 65144 Tlp. 081330017206 email: nur_athiroh_mlg@yahoo.co.id

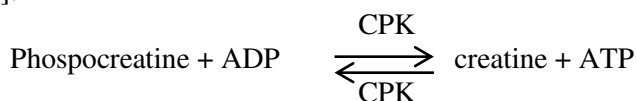
Tanggal Diterima 14 Februari 2017 – Publikasi Tanggal 1 Januari 2019

Pendahuluan

Benalu teh (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans) merupakan tanaman parasit atau tanaman pengganggu yang hidup menumpang pada tanaman teh (*Camelia sinensis* L.) dan sangat berpotensi sebagai obat-obatan. Beberapa senyawa aktif benalu teh dari famili Loranthaceae berpotensi sebagai antihipertensi [1]. *Viscum album* merupakan benalu semiparasit pada tanaman teh berpotensi untuk antihipertensi dan anti kanker [2].

Uji in vitro benalu teh dapat menurunkan kontraktilitas pembuluh darah arteri ekor tikus terpisah [3][4]. Penelitian secara in vivo memberikan hasil bahwasanya tikus model hipertensi paparan DOCA garam dapat diturunkan tekanan darahnya melalui perbaikan stress oksidatif dan disfungsi endotel oleh benalu teh (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans) [5],[6],[7]. Pada perkembangan penelitian mengenai benalu teh (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans) dapat menurunkan tekanan darah [8], dan pada uji lanjutan tentang toksisitas pada mencit kadar SOD dan MDA paparan EMSA, tidak berbeda nyata dengan kontrol sehingga dikatakan aman [7], [9], [10] dan pada uji toksisitas sub-kronik 28 hari berikutnya mengenai kadar trigliserida, kreatinin, albumin, dan total protein pada tikus yang dipapari EMSA tidak berbeda nyata dengan kontrol [11]. Tidak berhenti disitu penelitian terbaru mengenai benalu teh masih banyak lagi untuk menjadikan benalu teh sebagai bahan baku obat. Pada uji toksisitas sub-kronik pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) betina setelah pemaparan EMSA selama 90 hari menunjukkan hasil pada kadar kolesterol [12], Trigliserida [13], kreatinin [14], total kolesterol pada darah [15], protein [16] tidak berbeda nyata dengan kontrol, begitu juga pada penelitian uji toksisitas sub-kronik pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) betina setelah pemaparan EMSA selama 90 hari pada hispatologi nekrosis otak [17], jaringan pulmo [18], jaringan jantung [19] tidak terjadi beda nyata dengan kontrol. Dalam penelitian sebelumnya masih belum menyatakan fungsi enzim keseluruhan. Maka perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai uji toksisitas sub kronik selama 28 hari pada kadar *Creatine Phosphokinase* (CPK).

CPK adalah enzim yang mengkatalisis fosforilasi (transfer fosfat) dari creatine fosfat ke adenosine diphospat (ADP) untuk menghasilkan *adenosine triphospat* (ATP), reaksinya sebagai berikut [20]:



Menurut Brewster (2004) menyatakan bahwasanya enzim CPK sebagai *cardiac biomarker*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar CPK pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) betina setelah dipapari Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* Bl Dans. (EMSA) secara sub-kronik selama 28 hari.

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benalu teh (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans), metanol 90%, blender, oven, timbangan analitik, gelas beaker, kulkas, cawan petri, botol selai dan *rotary vacuum evaporator*. Tikus betina (*Rattus norvegicus*), timbangan analitik, buras, susu pap (makanan kelinci), kandang tikus, botol minum tikus, akuades, sekam dan alat sonde. alat seccio, spuit injeksi, papan bedah, handscone, masker, termos, anastesi eter dan mikrosentrifuge.

Metode

Penelitian ini menggunakan *True Experimental Design* dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba menggunakan tikus wistar betina berjumlah 20 ekor dibagi menjadi 4 perlakuan, perlakuan 1 sebagai kontrol dan 3 lainnya perlakuan yang dipapari EMSA dengan dosis 250, 500,

1000 mg/KgBB selama 28 hari (Sub-kronik) 5 kali seminggu. Hari terakhir dilakukan pembedahan pada setiap tikus berurutan berdasarkan perlakuan, selanjutnya dianalisis kadar enzim CPK dari serum darah tikus. Hasil kadar CPK yang didapatkan dianalisis dengan spss 14 menggunakan uji ANOVA dengan nilai kepercayaan 0,05.

Cara Kerja

Ekstraksi Maserasi: Daun *Scurrulaatropurpurea* Bl. Dans. Dicuci bersih dipilih daun yang tidak busuk dikeringkan di bawah sinar matahari sampai kering lalu di oven dengan suhu 40-60° C untuk menghilangkan kadar air yang ada pada daun. Kemudian di blender hingga menjadi bubuk (simplisia). Diambil 100 mg simplisia dimasukkan ke erlenmeyer 1 L dan dicampur dengan metanol hingga mencapai garis batas erlenmeyer 1 L. Di kocok selama 30-60 menit hingga homogen selanjutnya di diamkan 24 jam lalu diambil supernatan kemudian larutan EMSA di evaporasi hingga terbentuk pasta lalu disimpan dalam freezer[21]. pasta EMSA yang didapat dibuat dosis 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB, 1000 mg/KgBB. Volume sonde yang digunakan yaitu 2 ml/100gBB setiap harinya minimal 5 kali seminggu[22]. Pada hari ke 29 *Rattus novergicus* dibedah dan diambil serum darah untuk dianalisis enzim CPK.

Enzim CPK: Pengukuran kadar CPK dilakukan di klinik Bromo menggunakan instrumen Erba Manheim XL. 600 menggunakan metode *enzimatic kinetik* dari serum darah fresh yang baru diambil. Enzim CPK didapatkan secara otomatis dari hasil analisis instrumen tersebut dengan aplikasi yang terinstal dengan komputer[23].

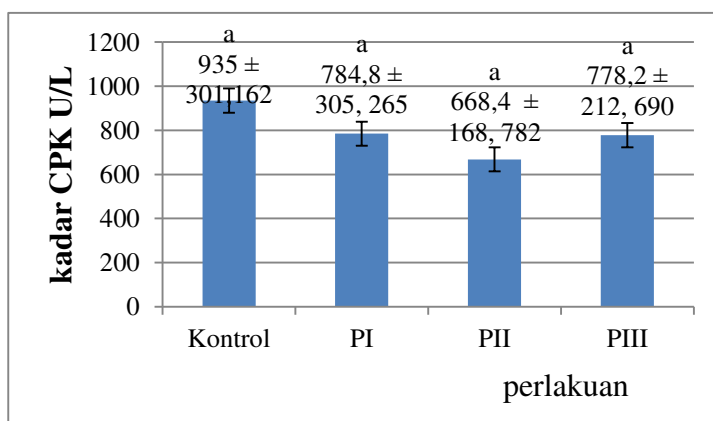
Uji ANOVA: Kadar enzim CPK yang didapatkan dianalisis dengan program spss 14 menggunakan uji ANOVA dalam tingkat kepercayaan 0,05.

Ethical Clearance: Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian FK UB (*Ethical Clearance*) nomor :369/EC/KEPK/06/2015.

Hasil dan Diskusi

Hasil Penelitian

Pengujian Kadar enzim CPK: Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil rerata kadar enzim CPK *Rattus novergicus* kontrol (K), pemaparan EMSA dosis 250mg/kgBB (PI), 500mg/kgBB(PII), 1000 mg/kgBB(PIII) berturut - turut adalah 935 U/L, 784,8 U/L, 668,4 U/L, 778,2 U/L dan berdasarkan uji ANOVA tidak berbeda nyata seperti pada histogram (Gambar 1).



Gambar 1. Rerata Kadar CPK terhadap Tikus Wistar Betina (*Rattus novergicus*) Setelah Pemberian EMSA

Keterangan :

PI= Pemberian dosis EMSA 250 mg/KgBB; PII= Pemberian dosis EMSA 500 mg/KgBB; PIII= Pemberian dosis EMSA 1000 mg/KgBB; Notasi @ = Menunjukkan tidak berbeda nyata

Pembahasan

Benalu teh (*Scurrula atropurpurea* Bl Dans.) merupakan tanaman parasit yang memparasiti tanaman teh. Nama benalu diberikan sesuai dengan tanaman yang di tumpanginya. Benalu teh disebarkan oleh burung pemakan biji yang membawa biji benalu dari tanaman satu ke tanaman lainnya dengan terbantu oleh sifat biji benalu yang lengket karena mengandung zat kimia *viscin*[24]. Benalu teh mengandung banyak senyawa aktif salah satunya flavonoid seperti *quersetin*, yang memiliki potensi sebagai obat-obatan. Suku *Loranthaceae* berpotensi sebagai anti hipertensi dan anti kanker[2]. Dari penelitian sebelumnya didapatkan bahwasanya masih belum menginformasikan tentang fungsi Enzim secara keseluruhan maka dari itu perlu dilakukan uji toksisitas sub-kronik selama 28 hari dalam kadar enzim CPK untuk menambah informasi.

Pada penelitian ini untuk mengetahui analisis kadar CPK pada tikus wistar betina setelah dipapari EMSA selama sub-kronik 28 hari. Hasil penelitian didapatkan rerata kadar CPK pada kontrol adalah 935 U/L sedangkan pada PI adalah 784, 8 U/L, pada PII 668, 4 U/L dan pada PIII memiliki kadar rerata CPK 778, 2 U/L. Nilai enzim CPK yang didapat tidak menunjukkan train karena pada penelitian untuk melihat dosis bersifat bifasik jadi tidak bisa melihat train karena metabolisme yang terjadi didalam tubuh tidak sama sehingga setiap dosis memiliki peluang mempengaruhi kadar enzim CPK berdasarkan hasil rerata kadar yang didapatkan. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwasannya rerata kadar enzim perlakuan lebih rendah dari kontrol hal ini karena EMSA menurunkan CPK. *quersetin* yang terkandung dalam EMSA mensintesis NO pada endotel dan otot polos sehingga mampu merangsang *guanylate cyclase* untuk membentuk cGMP sehingga terjadi *vasodilatasi* dan meningkatkan relaksasi. CPK memiliki ketergantungan terhadap Ca^{2+} karena CPK diaktivasi oleh Ca^{2+} dengan membaca sinyal yang dikirimkan oleh Ca^{2+} untuk mengaktifkan CPK [25]. EMSA dapat menghambat kanal Ca^{2+} sehingga pembentukan Ca^{2+} intrasel terhambat dan akhirnya menyebabkan enzim CPK pada semua tikus yang dipapari EMSA memiliki kadar CPK lebih rendah dari kontrol. Berdasarkan uji statistika ANOVA dengan *spss* 14 menunjukkan bahwa tidak terjadi beda nyata antar perlakuan karena memiliki nilai sig 0, 449 sehingga nilai P value lebih besar dari 0,05 ($P>0,05$) sehingga EMSA dinyatakan aman dan tidak toksik pada fungsi enzim CPK karena kadar CPK tidak mengalami peningkatan. Menurut Brewster (2006) menyatakan bahwasannya aktifitas kreatin kinase berkaitan dengan tekanan darah tinggi. Sehingga jika CPK pada serum darah meningkat ada indikasi kerusakan pada kerja otot jantung karena ATP sangat penting dalam kerja kontraksi otot jantung. CPK akan meningkat setelah Infark miokard, trauma jantung, setelah operasi jantung, gagal jantung kongestif [26] kerusakan otot jantung, dan keracunan oleh EMSA. Pada penelitian ini dosis EMSA yang direkomendasikan digunakan pada manusia yaitu dosis 250 mg/KgBB karena kadar enzim CPK yang didapatkan mendekati kontrol, sehingga dosis tersebut efektif digunakan. Hal ini juga dikuatkan dengan dosis 250 mg/KgBB merupakan dosis optimum yang merupakan dosis terendah dengan hasil yang maksimal, jika dosis terendah mampu bekerja secara optimal maka lebih baik tidak menaikkan dosis untuk menghindari resistensi penyakit.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang didapatkan dapat disimpulkan berdasarkan analisis data uji ANOVA menunjukkan nilai rata-rata kadar CPK pada serum tikus wistar betina yang dipapari EMSA selama 28 hari (sub-kronik) pada semua perlakuan tidak berbeda nyata dengan kontrol ($P>0,05$), hal ini menunjukkan bahwasanya pemberian dosis 1000, 500, 250 mg/KgBB tidak berpengaruh pada kadar enzim CPK dan EMSA dinyatakan aman dikonsumsi.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan, sesuai dengan surat perjanjian pelaksanaan penugasan Hibah nomor: 018/SPIIH/P/K7/KM/2015, tanggal 2 April 2015. Skim Strategis Nasional (Stranas) a.n. Dr. Nour Athiroh Abdoes Sjakoer. S. Si., M.Kes. yang telah menugaskan penulis untuk melakukan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1]Athiroh, N and N. Permatasari. 2012. Mechanism of Tea Mistletoe Action on Blood Vessels Medical. *Journal Brawijaya*. 27 (1) Page: 1-7.
- [2]Athiroh, N, AS. 2017. Monograf Benalu Teh Dan Hipertensi. *Intelegensia Media*. ISBN: 978-602-6874-85-6. Malang.
- [3]Athiroh, N., Widodo MA, dan Widjajanto E. 2000. Efek *Scurrula Oortiana* (Benalu Teh) dan *Macrosolen javanus* (Benalu Jambu Mawar) Terhadap Kontraktilitas Pembuluh Darah Arteri Ekor Tikus Terpisah Dengan Atau Tanpa Endotel. Tesis. Malang: UniversitasBrawijaya.
- [4]Athiroh, N. *Kontraktilitas Pembuluh Darah Arteri Ekor Terpisah Dengan Atau TanpaEndotel Setelah Pemberian Ekstrak Scurrula oortiana (Benalu Teh)*. *Jurnal Berkala Hayati Edisi Khusus 3D*. 2009: 31-34.
- [5]Athiroh, N., and E. Sulistyowati. 2013. *Scurrula atropurpurea* Increases Nitric Oxide and Decreases Malondialdehyde in Hypertensive Rats. *Jurnal Universa Medicina*. 32 (1) : 44-50.
- [6]Athiroh, N., N. Permatasari, D. Sargawo dan M.A Widodo. 2014. Antioxidative and Blood Pressure-Lowering Effects of *Scurrula atropurpurea* On Deoxycorticosterone Acetate-Salt Hypertensive Rats. *Biomarkers and Genomic Medicine*. 6 (1): 32-36.
- [7]Athiroh, N., Permatasari, D. Sargowo dan M.A. Widodo. 2014. Effect of *Scurrula atropurpurea* on Nitric Oxide, Endothelial Damage, and Endothelial Progenitor Cells of DOCA- salt Hypertensive rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 17 (8): 622-625.
- [8]Athiroh, N., and Wahyuningsih, D. 2017. Study of Superoxide Dismutase and Malondialdehyde Concentrations in Mice After Administration of Methanolic Extract of *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 11 (1) : 19-22.
- [9]Hikmah, U. Athiroh, N., dan Santoso, H. 2017. Kajian Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans. Terhadap Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase Tikus Betina. *e-urnalllmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 2 (2): 30-35.
- [10]Athiroh, N dan Permatasari, N. 2011. Mekanisme Deoxycorticostreone acetate (DOCA)- garam terhadap Peningkatan Tekanan Darah pada Hewan Coba. *Jurnal Biologi el- Hayah*.1 (4): 1-4.
- [11]Munawaroh, N.S. Athiroh, N., dan Santoso, H. 2016. Kajian Ekstrak Metanolik *Scurrulaatropurpurea* (Bl.) Dans. Terhadap Kadar Trigliserida Tikus Betina. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 2 (1): 59-64.
- [12]Zakia, J. F. dan Athiroh, N. 2017. Studi Sub-Kronik 90 Hari: Pengaruh Ekstrak *Scurrula atropurpurea* Terhadap Kadar Kolesterol Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina Galur Wistar. *e-Jurnalllmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 3 (2): 37 – 43.
- [13]Fajrin, S. A dan Athiroh, N. 2017. Studi Kadar Lipid Trigliserida pada Tikus Wistar Setelah Pemberian Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans Secara Subkronik Selama 90 Hari. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 3 (2): 24 – 29.
- [14]Prastika, N.I., Athiroh, N., Santoso, H. 2017. Pengaruh Pemberian Subkronik Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl) Dans Terhadap Kadar Kreatinin Tikus Wistar. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 2 (2): 42 – 48.

- [15]Zahroh, D.F., Athiroh, N., Santoso, H. 2017. Efek Pemberian Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl) Dans Terhadap Kadar Kolesterol Tikus Wistar Secara Subkronik. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 3 (1): 8 – 14.
- [16]Fatima, H., Athiroh, N., Santoso, H. 2017. Pemberian Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl) Dans Secara Subkronik Terhadap Protein Total Dan Albumin Tikus Betina. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 2 (2): 49 – 54.
- [17]Mihmidati, L dan Athiroh, N. 2017. Pengaruh Ekstrak Metanolik (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans) yang Diberikan Secara Subkronik 90 Hari Pada Tikus Betina (*Rattus norvegicus*) Terhadap Necrosis Otak. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 3 (2): 16 – 23.
- [18]Fahmiy, R dan Athiroh, N. 2017. Studi Sub-Kronik 90 Hari: Profil Histopatologi Pada Jaringan Pulmo Tikus (*Rattus norvegicus*) Akibat Paparan Ekstrak *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 3 (1): 39 – 45.
- [19]Hidayati, D.M.N dan Athiroh, N. 2017. Profil Histopatologi pada Jaringan Jantung Tikus Subkronik 90 Hari Menggunakan Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 3 (2): 30 – 36.
- [20]Harjono P, Y. 2004. Hubungan Antara Kerusakan Otak Pada Stroke Akut Dengan Peningkatan Cretine Phosphokinase. Tesis. Ilmu Penyakit Saraf FK UNDIP. Semarang.
- [21]Athiroh, N., Sulistyowati E. 2015. Evaluation of Methanolic Extract of *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans Sub-Chronic Exposure on Wistar Rat Liver. *AENSI Journal*. ISSN-1995-0756.
- [22]BPOM. 2014. Pedoman Uji Toksisitas NonKlinik Secara in vivo. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Indonesia.
- [23]DiaSys. 2009. Diagnostic System GmbH. Holzheim. Alte Strasse. 9 65558. Germany.
- [24]Solikin. 2016.*Upaya Perbanyakan Generatif Benalu: Dendrophthoe pentandra (L.)Miq.* International Conference on Global Resource Conversation. Pasuruan
- [25]Yi Ma, Zhao Yicen, Walker K, Robin and Berkowiltz A Gerald. 2013.Molecular Steps in the Immune Signaling Pathway Evoked by Plant Elicitor Peptides : Ca^{2+} Dependent Protein Kinase, Nitric Oxide, and Reactiv , Oxygen Species Are Downstream from the Early Ca^{2+} Signal. *Plant Physiologi*. 163: 1459-1471.
- [26]Burtis AC, Ashwood ER. 1996. Enzyme. In : Tietz fundamentals of clinical chemistry. WB Saunders Company. Philadelphia.: 283-313.
- [27]Brewster, Lizzy,. Gideon, Navin, R., Bindrabn, MD. Richard, P., Koopmans, Joseph, F. Clark, PhD. Gert, A. Van. 2006Creatine Kinase Activity Is Associated With Blood Pressure. Hypertension.. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA. 105.584490. URL:<http://www.circulationaha.org>