

UJI TOKSISITAS AKUT RAMUAN EKSTRAK PRODUK X TERHADAP PERUBAHAN MAKROSKOPIS DAN MIKROSKOPIS HEPAR TIKUS *SPRAGUE DAWLEY*

Rifki Adhi Nofrian¹, Noor Wijayahadi²¹Mahasiswa Program Studi S-1 Ilmu Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro²Staf Pengajar Ilmu Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang: : Ramuan ekstrak produk X merupakan obat tradisional yang dipercaya memiliki efek anti-inflamasi dan antioksidan yang telah lama digunakan masyarakat untuk menanggulangi masalah nyeri rematik, menyegarkan tubuh dan sebagainya. Ramuan ekstrak produk X dimetabolisme oleh hepar.

Tujuan: Untuk mengetahui ada atau tidaknya efek pemberian ramuan ekstrak produk X pada tikus *Sprague Dawley* yang diberikan secara akut terhadap makroskopis dan mikroskopis hepar.

Metode: Penelitian true eksperimental dengan rancangan *post-test only group design*. Sampel berupa 30 tikus *Sprague Dawley* betina yang dibagi secara acak menjadi enam kelompok. K merupakan kelompok kontrol yang hanya diberi akuades. P1, P2, P3, P4, P5 adalah kelompok perlakuan yang diberi ekstrak produk X 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB, 5000 mg/kgBB. Pemberian ekstrak dilakukan per oral melalui sonde pada hari ke 1. Pada hari ke-8 dilakukan terminasi, hepar diambil dan diamati gambaran morfologi dan mikroskopisnya. Data makroskopis dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis* sedangkan data mikroskopis dianalisis dengan uji *One Way Anova*.

Hasil: Uji *Kruskal Wallis* terhadap gambaran morfologi makroskopis hepar dan berat hepar tidak didapatkan perbedaan yang bermakna dengan nilai $p=1,00$ dan $(p=0,051)$. Rerata skor perubahan histopatologi tertinggi pada kelompok P3. Skor yang dinilai meliputi perubahan berupa degenerasi albumin, degenerasi hidropik dan nekrosis. Dengan uji *Anova* tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ($p=0,122$).

Kesimpulan: Pemberian ramuan ekstrak produk X secara akut menunjukkan gambaran makroskopis hepar normal dari tikus *Sprague Dawley*. Pada pemberian dengan dosis 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB, 5000 mg/kgBB tidak menunjukkan perubahan jumlah kerusakan sel hepar tikus *Sprague Dawley*.

Kata kunci: Ramuan ekstrak produk X, gambaran makroskopis hepar, gambaran mikroskopis hepar.

ABSTRACT

POTION OF X PRODUCT EXTRACT ACUTE TOXICITY TEST TO MACROSCOPIC AND MICROSCOPIC CHANGE OF SPRAGUE DAWLEY RATS LIVER

Background: Potion of X Product Extract is a traditional drug which has long been used and believed for its anti-inflammatory and antioxidant effect to overcome rheumatic disease, freshen the body and etc. Potion of X Product Extract is metabolism by the liver.

Aim: To see if there's any effects from the use of Potion of X Product Extract acutely to macroscopic and microscopic in *Sprague Dawley* liver.

Method: The study was a true experimental by utilizing post-test only group design. 30 female rats were used as the sample and are randomly divided into 6 groups. K was the

control group which was only given aquadest. While P1, P2, P3, P4, and P5 were experimental group which were given potion of X product extract in 5 mg/kgBW, 50 mg/kgBW, 300 mg/kgBW, 2000 mg/kgBW, and 5000 mg/kgBW dosage. The extract was orally given using gastric tube in the first day. On the 8th day, the rats were terminated to observe the livers' morphological and microscopic. Macroscopic data was analysed by Kruskal-Wallis test, and the microscopic data was analysed by One Way-Anova test.

Result: The Kruskal Wallis test for macroscopic morphological and weight of liver showed that there were no significant difference with $p=1,000$ and $p=0,051$. The highest liver histopathological score change was in P3 group. The score which were evaluated involve albumin degeneration, hydropic degeneration and necrosis. By making use of Anova test, no significant difference was found ($p=0,122$).

Conclusion: Acute treatment using potion of x product extract shows normal macroscopic appearance of Sprague Dawley rats' liver. The administration of 5 mg/kgBW, 50 mg/kgBW, 300 mg/kgBW, 2000 mg/kgBW, and 5000 mg/kgBW dosages does not the damage to the hepatocyte cell of Sprague Dawley Rats.

Keyword: Potion of X product extract, liver's macroscopic appearance, liver's microscopic appearance.

PENDAHULUAN

Hepar merupakan organ terbesar dalam tubuh manusia dibungkus oleh jaringan ikat dan merupakan pusat metabolisme tubuh dengan fungsi sangat kompleks diantaranya memegang peranan penting dalam fungsi metabolisme, pengambilan nutrisi dan lain-lain.¹ Setiap obat yang masuk kedalam tubuh akan mengalami proses farmakokinetik. Proses ini mencakupi absorpsi, distribusi, metabolisme, dan sekresi. Proses metabolisme obat khususnya terjadi di hepar.²

Hepar akan mengubah struktur obat menjadi hidrofilik yang awalnya adalah lipofilik sehingga mudah dikeluarkan dari dalam tubuh melalui urin atau empedu memungkinkan terjadinya penumpukan xenobiotik di hepar sehingga menimbulkan efek hepatotoksik. Gangguan fungsi hepar menjadi masalah baik di negara maju maupun negara berkembang, terutama di Indonesia. Indonesia merupakan negara dengan angka kerusakan hepar sangat tinggi, mulai dari kerusakan yang tidak tetap namun dapat berlangsung lama. Salah satu penyebab kerusakan hepar adalah obat-obatan. Di Amerika Serikat ada sekitar 2000 kasus gagal hepar akut yang terjadi setiap tahunnya dan lebih dari 50% disebabkan oleh obat. Obat yang dikatakan hepatotoksik adalah obat yang menginduksi kerusakan hepar atau biasanya disebut sebagai *drug induced liver injury*. Obat penginduksi kerusakan hepar semakin diakui sebagai penyebab terjadinya penyakit hepar akut dan kronis.^{3,4,5,6}

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan galenik atau campuran dari bahan-bahan tersebut, yang secara

tradisional telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. Pengobatan tradisional telah memberikan kontribusi yang nyata dalam pelayanan kesehatan. Pengobatan tradisional sendiri ini terbagi menjadi dua yaitu cara penyembuhan tradisional atau traditional healing yang terdiri daripada pijatan, kompres, akupuntur dan sebagainya serta obat tradisional atau traditional drugs yaitu menggunakan bahan-bahan yang telah tersedia dari alam sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit.^{7,8}

Salah satu contoh dari pengobatan tradisional adalah pengobatan herbal, pengobatan ini telah berlangsung sejak lama digunakan nenek moyang dengan memakai bahan-bahan alami dari alam dan obat herbal ini telah digunakan meluas secara turun-menurun sampai sekarang. Umumnya obat herbal digunakan untuk memelihara kesehatan, pencegahan terhadap penyakit, pengobatan terhadap penyakit maupun pemulihan kesehatan.⁹

Pengobatan ini telah berkembang digunakan dengan baik dikarenakan keanekaragaman hayati di Indonesia sangat berlimpah. Didunia keanekaragaman hayati Indonesia menduduki urutan terkaya, hal ini dikarenakan, Indonesia memiliki kurang lebih 30.000 spesies tanaman dan diketahui sekurang-kurangnya 9.600 spesies tumbuhan berkhasiat sebagai obat dan kurang lebih 300 spesies telah digunakan sebagai bahan obat-obatan herbal.¹⁰ Tidak heran juga jika masyarakat Indonesia telah menggunakan obat herbal yang berasal dari tumbuhan secara turun-temurun, hal ini dikarenakan potensi sumber daya tumbuhan yang ada di Indonesia sangat berlimpah sejak dahulu.¹¹

Salah satu contoh obat yang mengandung keanekaragaman hayati adalah produk X. Produk ini banyak mengandung ekstrak: *Languatis rhizoma* (Lengkuas) 40 mg, *Zingiberis aromatica rhizoma* (Rimpang Lempuyang Wangi) 40 mg, *Retrofracti fructus* (Cabe Jawa) 40 mg, *Curcuma rhizoma* (Temulawak) 40 mg. Produk ini digunakan dalam bentuk jamu oleh masyarakat biasanya untuk mengatasi kelelahan, pegal linu dan nyeri sendi.¹²

Agar dapat digunakan secara luas, suatu produk harus melalui beberapa tahap pengujian. Pengujian suatu produk meliputi beberapa tahapan yaitu pemilihan, pengujian farmakologik, pengujian toksisitas, pengujian farmakodinamik, pengembangan sediaan atau formulasi, penapisan fitokimia dan standarisasi sediaan serta tahap akhir berupa pengujian klinik. Uji toksisitas sendiri terdapat beberapa tahapan yaitu uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronik, uji toksisitas kronik.¹³ Uji Toksisitas akut merupakan suatu uji yang dilakukan dengan memberikan zat kimia atau zat tertentu yang sedang diuji sebanyak satu kali atau beberapa kali dalam jangka waktu 24 jam digunakan untuk menghitung LD50.¹⁴ Dan nantinya

setelah uji toksisitas telah dilaksanakan, obat wajib distandarisasi oleh BPOM merupakan suatu lembaga yang mengawasi obat dan makanan yang dikonsumsi oleh masyarakat.

Penelitian uji toksisitas akut ekstrak produk X perlu dilakukan untuk menghindari masyarakat dari efek toksik pada hepar. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk mengetahui efek pemberian ekstrak produk X terhadap gambaran histopatologi hepar. Peneliti memilih hepar sebagai organ yang akan diteliti dengan mempertimbangkan bahwa semua zat yang masuk ke dalam tubuh manusia akan dimetabolisme oleh hepar.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini meliputi bidang ilmu farmakologi dan patologi anatomi dan dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Terapi serta pemeriksaan dan analisis histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada bulan Maret-Juni 2016.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan post test only controlled group design. Penelitian ini menggunakan 6 kelompok, yaitu 5 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol, dengan sistem randomisasi sederhana. Penelitian hanya dilakukan saat post test, dengan membandingkan hasil observasi kelompok perlakuan dan kontrol.

Sampel penelitian ini adalah tikus *Sprague dawley* betina berumur 2-3 bulan, berat badan 100-150 gram, sehat, tidak ada kelainan anatomis, yang diperoleh dari Unit Pelayanan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Tikus sebelum perlakuan akan mengalami masa adaptasi dengan dikandangkan dan diberikan pakan standar selama seminggu. Tikus tersebut lalu dibagi menjadi 6 kelompok yang ditentukan secara acak, yaitu kelompok kontrol (K) diberi pelarut, kelompok P1 diberi ekstrak produk X dengan dosis 5 mg/KgBB, kelompok P2 diberi ekstrak produk X dengan dosis 50 mg/KgBB, kelompok P3 diberi ekstrak produk X dengan dosis 300 mg/KgBB, kelompok P4 diberi ekstrak produk X dengan dosis 2000 mg/KgBB, dan kelompok P5 diberi ekstrak produk X dengan dosis 5000 mg/KgBB.

Ekstrak produk X diberikan dengan sonde lambung. Pengamatan dilakukan selama 7 hari, kemudian pada hari ke-8 mencit dibunuh (dekapitasi) untuk dilakukan pengambilan hepar lalu diamati kondisi makroskopisnya, dan selanjutnya diproses dengan metode baku histopatologi, kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopis setelah dilakukan pembuatan preparat sesuai prosedur.

Setiap hepar tikus dibuat preparat dan tiap preparat dibaca dalam lima lapangan pandang yang berbeda, dengan perbesaran 400 kali. Setiap lapangan pandang dihitung 40 sel hepatosit dan dinilai skor tiap sel. Kemudian dihitung rerata bobot skor perubahan histopatologi hepar dari lima lapangan pandang dari masing-masing tikus.

HASIL PENELITIAN

Data yang diperoleh dari pengamatan makroskopis adalah data kategorikal untuk morfologi permukaan dan numerik dengan distribusi normal untuk berat hepar. Deskripsi data yang digunakan untuk berat hepar adalah mean dan standar deviasi dengan hasil seperti pada tabel 1 dan morfologi permukaan pada tabel 2.

Tabel 1. Data deskriptif pengamatan berat hepar tiap kelompok

Kelompok Perlakuan	Berat Hepar (gram)	
	Mean	SD
Kontrol	68,4	7,9
Perlakuan 1 (5mg/kgBB)	61,2	4,3
Perlakuan 2 (50 mg/kgBB)	75	11,1
Perlakuan 3 (300 mg/kgBB)	67,4	6,4
Perlakuan 4 (2000 mg/kgBB)	62,6	8,0
Perlakuan 5 (5000 mg/kgBB)	60,6	6,5

Uji *One Way Anova* $p=0,051$

Tabel 2. Skor morfologi permukaan hepar tiap kelompok

Tikus ke- Kelompok	1	2	3	4	5
K	0	0	0	0	0
P1	0	0	0	0	0
P2	0	0	0	0	0
P3	0	0	0	0	0
P4	0	0	0	0	0
P5	0	0	0	0	0

Uji *Kruskal-wallis* $p=1,000$

Data yang diperoleh dari pengamatan mikroskopis adalah data numerik, dengan distribusi normal dan homogen. Deskripsi data yang digunakan adalah mean dan standar deviasi, seperti tercantum pada tabel 3.

Tabel 3. Data deskriptif pengamatan mikroskopis tiap kelompok

Kelompok Perlakuan	Nilai skor perubahan histopatologi sel hepar	
	Mean	SD
Kontrol	1,618	0,351
Perlakuan 1 (5 mg/kgBB)	1,853	0,454
Perlakuan 2 (50 mg/kgBB)	2,050	0,452
Perlakuan 3 (300 mg/kgBB)	2,251	0,114
Perlakuan 4 (2000 mg/kgBB)	2,216	0,412
Perlakuan 5 (5000 mg/kgBB)	1,929	0,390

Uji *One Way Anova* $p=0,112$

PEMBAHASAN

Hasil pengamatan pada kondisi makroskopis hepar hewan coba setelah pemberian ekstrak produk X dengan dosis bertingkat menunjukkan bahwa tidak terdapat suatu perubahan morfologi dan berat hepar bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan dengan nilai $p=1,000$ ($p>0,05$) untuk morfologi permukaan dan $p=0,051$ ($p>0,05$) untuk berat hepar.

Proses Kerusakan hepar dapat di pengaruhi oleh beberapa faktor yaitu: jenis zat kimia yang terlibat, dosis yang diberikan, dan lamanya paparan zat tersebut. Pada dasarnya setiap yang namanya zat kimia pasti memiliki sifat racun dan setiap keracunan ditentukan oleh dosis dan cara pemberian. Banyak faktor yang dapat digunakan untuk mengetahui apakah zat tersebut bersifat racun, namun dosis merupakan faktor utama yang terpenting, untuk menentukan zat tersebut toksik.²

Perubahan makroskopis biasanya terjadi pada keadaan kronis. Degenerasi ringan umumnya pada hepar dapat tidak berpengaruh terhadap gambaran makroskopis, karena hepar mempunyai kemampuan regenerasi yang sangat baik. Kehilangan jaringan akibat zat-zat toksik memacu mekanisme dimana sel-sel hepar mulai membelah dan terus berlangsung sampai perbaikan massa jaringan tercapai.^{15,16} Tidak adanya perubahan bermakna dari gambaran makroskopis dapat dijelaskan karena beberapa hal, yaitu 1) Lama waktu pemberian yang singkat, 2) Perlakuan hanya diberikan pada awal penelitian, 3) Kandungan ramuan ekstrak produk X yang hanya bisa memberikan pengaruh terhadap gambaran histopatologi.

Hasil pengamatan mikroskopis hepar diamati dibawah mikroskop cahaya dalam lima lapangan pandang yang berbeda untuk setiap preparat organ hepar . Setiap lapangan pandang dihitung 40 sel hepar dan dinilai skor tiap sel dari kelompok normal, degenerasi albumin,

degenerasi hidropik dan nekrosis. Kemudian dihitung rerata bobot skor perubahan histopatolog hepar dari lima lapangan pandang dari masing-masing mencit.

Hasil pengamatan mikroskopis hepar hewan coba setelah diberikan ekstrak produk X dengan dosis bertingkat menunjukkan tidak terdapat suatu perubahan mikroskopis yang tidak bermakna baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan dengan nilai $p=0.122$ ($p>0.05$).

Nilai skor perubahan struktur histopatologi sel hepar secara umum meningkat sesuai dengan bertambahnya dosis ekstrak produk X. Hal ini sesuai dengan konsep hubungan antara konsentrasi dan respon yaitu pada rentang dosis tertentu, konsentrasi obat pada reseptor dapat menimbulkan efek terapi tetapi dapat juga menimbulkan efek toksik. Dimana semakin tinggi konsentrasi, maka respon yang ditimbulkan semakin besar (respon terapi dan respon toksik).¹⁷

Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak produk X dengan dosis bertingkat secara akut tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap gambaran mikroskopis hepar, dan juga tidak memberikan dampak nyata terhadap perubahan makroskopis hepar yang diamati lewat perubahan morfologi permukaan dan berat hepar.

Perubahan secara mikroskopis pada penelitian terjadi karena kandungan dari ramuan ekstrak produk X yang mengandung senyawa seperti kurkumin, desmetoksikurkumin dan piperine yang bersifat sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Penggunaan antiinflamasi secara berlebihan dapat bersifat toksik, berbeda dengan antioksidan yang bersifat hepatoprotektif dimana antioksidan melindungi hepar dari proses stress oksidatif.¹⁸

Perubahan tidak bermakna secara mikroskopis pada penelitian ini disebabkan karena 1) setiap zat larut yang masuk ke tubuh akan dimetabolisme oleh hepar menjadi zat tidak aktif, 2) terdapat zat yang bersifat hepatoprotektif dalam ramuan ekstrak produk X sehingga melindungi hepar dari proses kerusakan sel, 3) sel hepar mempunyai kemampuan regenerasi yang sangat tinggi menyebabkan kerusakan sangat minimal pada sel hepar.¹⁹

Keterbatasan pada penelitian ini adalah adanya keterbatasan jumlah sampel dan cara fiksasi yang masih kurang baik pada saat proses pembuatan preparat. Selain itu, sebelum pengambilan sampel tidak dilakukan pemeriksaan terhadap hepar tikus, sehingga adanya kemungkinan hewan coba mengidap penyakit lain. Hal ini terlihat pada kelompok kontrol ditemukan gambaran degenerasi hidropik dan nekrosis sel hepar. Hal ini bisa terjadi karena faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil penelitian seperti pemberian pakan dan minum yang kurang sesuai standar dan kurang bervariasi, kondisi kandang yang kurang ideal, faktor

stres tikus, pengaruh zat atau penyakit lain, serta faktor internal lain seperti daya tahan dan kerentanan tikus.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Pemberian ramuan ekstrak produk X secara akut menunjukkan gambaran makroskopis hepar normal dari tikus *Sprague dawley*. Pada pemberian ramuan ekstrak produk X dengan dosis 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB, 5000 mg/kgBB menunjukkan perubahan gambaran mikroskopis hepar tikus *Sprague Dawley*, namun perubahan gambaran mikroskopis tersebut hampir sama.

Saran

Penelitian ini perlu dilakukan ditambahkan parameter pengukuran makroskopik yang berbeda lainnya, contohnya volume hepar rata rata atau parameter lain sehingga dapat diketahui lagi ada atau tidaknya efek pemberian ramuan ekstrak produk X terhadap gambaran makroskopik hepar.

Penelitian yang sama perlu dilakukan dengan pengamatan second observer oleh ahli patologi anatomi untuk menghindari bias, dan dilakukan penelitian lebih lanjut dengan waktu paparan yang lebih lama untuk mengetahui potensi toksisitas subkronik dan kronik ramuan ekstrak produk X serta menggunakan skor penilaian derajat kerusakan hepar menurut standar internasional.

DAFTAR PUSTAKA

1. Guyton A, Hall J. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. 9th ed. Jakarta: EGC
2. Setiawati A, Suyatna F, Gan S. 2007. *Pengantar Farmakologi Dan Terapi*. 5th ed. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
3. Depkes RI. *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Hati*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2007.
4. Lucena MI, Cortes MG, Cueto R, Duran JLL, Andrade R. Assesment of Drug Induced Injury in Clinical Practice , *Fundamental & Clinical Pharmacology*. 2008:10.
5. Sonderup MW. Drug Induced Liver Injury is a significant Cause of Liver Disease, Including Chronic Liver, Drug Indced Liver Injuries. 2006:29.

6. Isabel M, et al. Assesment of drug-induced liver injury in clinical pactice. *Agencia Espan~ola del Medicam from Fondo Investig n Sanit.* 2008.
7. Asmino, P., 1995. *Pengalaman Peribadi Dengan Pengobatan Alternatif.* Jakarta: Airlangga University Press.
8. Kesehatan M, Indonesia R. Menteri kesehatan republik indonesia. 2011;(541):1-19.
9. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional.* 1st ed. Jakarta: Departemen Kesehatan; 2000.
110. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Kebijakan Obat Tradisional Nasional.* Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2007.
11. Katno PS. *Tingkat Manfaat Dan Keamanan Tanaman Obat Dan Obat Tradisonal.* Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
12. Elfahmi, Woerdenbag HJ, Kayser O. Jamu: Indonesian traditional herbal medicine towards rational phytopharmacological use. *J Herb Med.* 2014;4(2):51-73. doi:10.1016/j.hermed.2014.01.002.
13. Loomis , TA., 1978, Toksikologi dasar, diterjemahkan oleh Donatus, LA., edisi III, IKIP Semarang Press, Semarang: 39-41; 58-60.
14. Radji, M & Harmita. 2004. Buku Ajar Analisis Hayati. Departemen Farmasi FMIPA UI, Depok: 47-55;72-75; 77-85.
15. Mescher, Anthony L. Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas 12th ed. Alih bahasa: Frans Dany. Jakarta: EGC; 2012; 281-87.
16. Robin SL, Kumar V. Buku Ajar Patologi II. 4 th ed. Jakarta: EGC; 1995. 318.
17. Mycek Mj, Harvey RA, Champe PC. *Farmakologi Ulasan Bergambar. 2nd Ed.* Jakarta: Widya Medika; 2001. 21.
18. Jurnalis YD, Sayoeti Y. Tinjauan Pustaka Peran Antioksidan pada Non Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). 2014;3(1):15-20.
19. Soebowo; Sarjadi; Wijaya, Indra. dkk. Patologi Umum. Patologi Anatomi 1..Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2013.