

Pengaruh ekstrak-heksan herba meniran (*Phyllanthus niruri L.*) terhadap efek toksik aflatoksin B₁ pada hati tikus *Rattus norvegicus*

Wiryatun Lestariana

Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT

Wiryatun Lestariana - Effects of Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) Herbs-Hexane Extracts Against the Toxic Effect of Aflatoxin B₁ in The Liver of *Rattus norvegicus* Rats

The principal objective of this study is to provide more extensive description of the chemopreventive effect of meniran herbs-hexane extracts against the toxic effect of aflatoxin B₁ in the liver of *Rattus norvegicus* rats. The subjects consisted of sixteen male rats *Rattus norvegicus* in good general condition, 1 - 2 month old with body weight around 62 - 68.5 grams, divided into 4 groups of four rats each. Water and *ad libid* were given to All of the groups of the rats. The first group was given 1 ml of emulsion of coconut oil. The second group was given 30 mg of meniran herbs-hexane extracts in 1 ml emulsion. The third group was given 15 g aflatoxin B₁ (AFB₁) in 1 ml emulsion. The fourth group was given 30 mg of meniran herbs-hexane extracts and 15 g of AFB₁ in 1 ml of emulsion. Extract and AFB₁ were given orally by an applicator for 16 weeks. By analysis of variance the results showed that the effect of meniran herbs-hexane extracts against the toxic effect of aflatoxin B₁ demonstrated a significant effect ($p < 0,01$) in serum alanine aminotransferase (glutamic pyruvictransaminase). Aflatoxin B₁ increased serum alanine aminotransferase significantly ($p < 0.001$) in comparison with control (the group of rats treated with 1 ml emulsion and the group of the rats treated with 30 mg extracts). Histological feature in the group of rats treated with AFB₁ showed bad liver features compared to the other groups. There were altered foci in the hepatocytes (3/5) and the bile duct epithelial cells demonstrated hyperplasia as well as metaplasia (5/5). The group of the rats treated with meniran herbs-hexane extracts and AFB₁ showed normal hepatocytes and some of bile duct epithelial cells showed proliferation. The other groups of the rats respectively treated with coconut oil emulsion and meniran herbs-hexane extracts showed normal hepatocytes and bile ducts epithelial cells. It is concluded that meniran herbs-hexane extracts could be used to reduce aflatoxin B₁ toxicity in the rat liver.

Keywords: *Phyllanthus niruri L.* herbs-hexane extracts - aflatoxin B₁ - serum alanine aminotransferase - bile duct epithelial cells - hepatocytes - *Rattus norvegicus*

ABSTRAK

Wiryatun Lestariana - Pengaruh ekstrak-heksan herba meniran (*Phyllanthus niruri L.*) terhadap efek toksik aflatoksin B₁ pada hati tikus *Rattus norvegicus*

Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) adalah tanaman perdu yang oleh masyarakat di Indonesia digunakan sebagai obat tradisional untuk pengobatan berbagai penyakit antara lain penyakit hati. Hasil penelitian menunjukkan bahwa herba meniran mengandung senyawa lignan dan senyawa ansiklik yang mempunyai potensi sebagai anti hepatotoksik. Aflatoksin B₁ dan campuran aflatoksin adalah senyawa karsinogenik yang sampai sekarang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di berbagai negara yang beriklim tropis. Atas dasar bahwa herba meniran mempunyai potensi antihepatotoksik dan aflatoksin merupakan senyawa hepatotoksik, maka masalah yang timbul adalah apakah herba meniran dapat digunakan untuk mencegah aflatoksikosis? Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak-heksan herba meniran (*Phyllanthus niruri L.*) terhadap efek toksik aflatoksin B₁ dalam hati tikus *Rattus norvegicus*. Enambelas ekor tikus jantan, umur 1-2 bulan, berat badan antara 62-68,5 gram dan tampak sehat dibagi secara acak menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Tikus kelompok I (K I) diberi air dan ransum *ad libitum* dan 1 ml emulsi minyak kelapa 10%. Tikus kelompok II (K II) diperlakukan seperti K I dan diberi 30 mg ekstrak-heksan herba meniran

yang dilarutkan dalam 1 ml emulsi minyak. Tikus kelompok III (K III) diperlakukan seperti K I dan diberi 15 g aflatoxin B₁ (AFB₁) yang dilarutkan dalam 1 ml emulsi minyak. Tikus kelompok IV (K IV) diperlakukan seperti K I ditambah 30 mg ekstrak-heksan herba meniran dan 15 g AFB₁ yang dilarutkan dalam 1 ml emulsi minyak. Pemberian emulsi minyak, ekstrak dan AFB₁ dilakukan setiap hari per oral dengan sonde selama 16 minggu. Hasil uji statistik dengan analisis variansi menunjukkan bahwa, ekstrak-heksan herba meniran mempunyai pengaruh yang bermakna ($p < 0,01$) terhadap efek toksik AFB₁ pada aktivitas alanin aminotransferase dalam serum. Dibanding dengan kontrol (K I, K II), AFB₁ meningkatkan aktivitas alanin aminotransferase dalam serum secara bermakna ($p < 0,01$) dan ekstrak-heksan herba meniran dapat menurunkan kenaikan aktivitas alanin aminotransferase serum yang disebabkan oleh AFB₁ ($p < 0,01$). Gambaran histologis jaringan hati tikus menunjukkan bahwa, kelompok tikus yang mendapatkan AFB₁ (K III), sel-sel epitel pembuluh empedunya mengalami hiperplasi dan metaplasia (5/5) dan dalam hepatositnya tampak adanya lesi preneoplastik (3/5). Gambaran histologis jaringan hati tikus K I dan K II menunjukkan gambaran histologis sel-sel epitel pembuluh empedu dan hepatosit normal. Sedang tikus yang mendapatkan AFB₁ dan ekstrak-heksan herba meniran (K IV), gambaran histologis hepatositnya tampak normal tetapi sebagian sel-sel epitel pembuluh empedunya mengalami proliferasi. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak-heksan herba meniran dapat digunakan untuk mengurangi efek toksik aflatoxin B₁ pada hati tikus.

(B.I.Ked. Vol. 29, No. 2:61-67, Juni 1997)

PENGANTAR

*International Agency for Research on Cancer (IARC)*¹ melaporkan bahwa aflatoxin B₁ merupakan masalah utama kesehatan masyarakat di Asia Timur, Asia Tenggara dan Melanesia. Lebih dari 90% insidensi karsinoma hepatoselular disebabkan oleh faktor lingkungan seperti asbes dan aflatoxin B₁. IARC mengklasifikasikan aflatoxin B₁ dan campuran aflatoxin sebagai karsinogen manusia kelompok I².

Aflatoxin B₁ adalah metabolit sekunder yang paling toksis yang dihasilkan terutama oleh kapang *Aspergillus flavus*. *A. flavus* mudah tumbuh pada substrat dengan suhu 25 - 30°C dengan kelembaban udara antara 70 - 80%. Dengan demikian negara yang mempunyai iklim tropis, suhu dan kelembaban udara memberi peluang untuk tumbuhnya kapang *A. flavus*^{3,4}.

Aflatoxin B₁ (AFB₁) dalam tubuh mengalami biotransformasi menjadi metabolit yang tidak toksis, metabolit kurang toksis dan metabolit toksis (reaktif). Metabolit yang reaktif ini selanjutnya dapat berikatan kuat dengan makromolekul inti (DNA, RNA, protein). Metabolit yang berikatan kuat dengan makromolekul inti dapat mengakibatkan cedera sel (lesi) dan terjadinya kanker².

Mengingat bahwa aflatoxin B₁ diduga merupakan salah satu faktor penyebab karsinoma hati manusia dan tumbuhnya kapang *A. flavus* sukar dihindari, maka perlu dicari upaya preventif terhadap efek toksik aflatoxin B₁.

Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) adalah tanaman perdu yang oleh masyarakat di Indonesia digunakan sebagai obat tradisional untuk pengobatan berbagai penyakit, misalnya penyakit hati, diuretika dan infeksi saluran kencing⁵.

Ekstrak-heksan herba meniran telah terbukti mengandung senyawa aktif yang dapat menghambat kerusakan sel hati yang diinduksi karbon tetraklorida⁶. Karbon tetraklorida (CCl₄) seperti halnya AFB₁ dalam tubuh juga mengalami biotransformasi menjadi metabolit reaktif yang pada proses biokimiawi selanjutnya dapat mengakibatkan cedera sel (lesi)⁷. Huang dan Chen⁸ melaporkan bahwa ekstrak-heksan herba meniran mengandung senyawa filantin dan hipofilantin yang dapat mencegah terjadinya lesi pada sel hati yang diinduksi oleh CCl₄. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa herba meniran mengandung senyawa lignan dan senyawa ansiklik yang mempunyai potensi antihepatotoksik^{8,9}.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan apakah ekstrak-heksan herba meniran juga dapat digunakan untuk menghambat kerusakan sel hati yang diinduksi oleh AFB₁.

Pada penelitian ini dilakukan penentuan aktivitas enzim alanin aminotransferase (ALT) dalam serum dan gambaran histologis hati tikus.

BAHAN DAN CARA

Bahan

Bahan uji adalah herba (daun) meniran (*Phyllanthus niruri* L.) yang diperoleh dari Balai Pe-

nelitian Tanaman Obat Tradisional, Tawangmangu dan aflatoksin B₁ yang diperoleh dari Sigma.

Hewan percobaan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, umur 1 - 2 bulan dengan berat badan 62 - 68,5 gram dan tampak sehat (kadar protein 6 - 7 gram/100 ml serum dan aktivitas ALT dalam serum 4,6 - 6,1 U/100 ml). Tikus diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan Universitas Gadjah Mada.

Cara pembuatan ekstrak herba meniran

Daun meniran yang sudah tua dikeringkan dalam oven 40°C sampai kering kemudian dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan *mesh* 40. Tiga ratus gram serbuk direndam dalam *soxhlet* dengan penyari n-heksan selama 24 jam.

Serbuk yang telah direndam tersebut diekstraksi dengan n-heksan hingga diperoleh tetesan akhir tidak berwarna hijau. Semua ekstrak yang diperoleh diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental dan kemudian ditimbang. Setiap 300 gram herba meniran diperoleh ekstrak kental sebesar 10,71 gram. Karena ekstrak kental yang diperoleh tidak larut dalam air, maka dalam melakukan uji aktivitas hepatoprotektif dibuat emulsi dengan minyak kelapa 10%. Tiap mililiter (ml) emulsi mengandung ekstrak kental 30 miligram (mg).

Tahapan penelitian

Enambelas ekor tikus yang telah memenuhi persyaratan yang ditentukan dalam penelitian ini dibagi secara acak menjadi 4 kelompok yaitu kelompok I s/d IV. Masing-masing kelompok terdiri dari empat ekor tikus. Selanjutnya masing-masing kelompok tikus diperlakukan seperti dalam TABEL 1.

TABEL 1. - Perlakuan pada 4 kelompok tikus

Kelompok	Perlakuan per hari selama 16 minggu
K I	diberi ransum dan minum <i>ad libitum</i> + 1 ml emulsi minyak dengan sonde (Kel. Kontrol)
K II	seperti K I + 30 mg ekstrak meniran yang dimasukkan ke dalam 1 ml emulsi minyak
K III	seperti K I + 15 µg aflatoksin B ₁ yang dimasukkan ke dalam 1 ml emulsi minyak
K IV	seperti K I + 30 mg ekstrak meniran dan 15 µg aflatoksin B ₁ yang dimasukkan ke dalam 1 ml emulsi minyak

Pada akhir percobaan, semua tikus dipuasakan dahulu selama kurang lebih 10 jam. Selanjutnya darah diambil dari sudut mata untuk ditentukan aktivitas enzim *alanin aminotransferase* dalam serumnya. Aktivitas enzim ini digunakan untuk mendukung ada tidaknya kelainan dalam jaringan hati tikus. Tikus dimatikan, hatinya diambil untuk dibuat sediaan jaringan hati¹⁰.

Analisis data

Hasil pengukuran aktivitas enzim *alanin aminotransferase* dalam serum tikus pada akhir percobaan dianalisis dengan ANAVA. Hasil gambaran histologis jaringan hati tikus dianalisis dengan membandingkan gambaran histologis satu dengan yang lain antar kelompok tikus dan antar tikus dalam kelompok itu sendiri. Dari hasil analisis tersebut dapat diperoleh gambaran ada tidaknya pengaruh ekstrak-heksan herba meniran terhadap efek toksik aflatoksin B₁.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas *alanin aminotransferase* dalam serum

Aktivitas *alanin aminotransferase* dalam serum masing-masing kelompok tikus disajikan dalam TABEL 2. Tampak bahwa aktivitas *alanin aminotransferase* dalam serum tikus semua kelompok menunjukkan kenaikan dibandingkan dengan aktivitas enzim tersebut pada awal percobaan (*range* 4,6 - 6,1 U/100ml serum). Aktivitas enzim *alanin aminotransferase* serum tertinggi (13,00 ± 1,23 IU/100 ml) adalah tikus kelompok III yaitu kelompok tikus yang setiap harinya mendapatkan 15 µg AFB₁. Hasil analisis dengan ANAVA menunjukkan bahwa aktivitas enzim tersebut menunjukkan kenaikan yang bermakna ($p < 0,01$). TABEL 2 menunjukkan bahwa aktivitas enzim *alanin aminotransferase* yang paling tinggi ditemukan pada kelompok tikus yang mendapatkan AFB₁ dan hasil analisis ANAVA antar kelompok menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kelompok lain ($p < 0,01$). Aktivitas *alanin aminotransferase* yang menunjukkan perbedaan bermakna adalah antara kelompok-kelompok tikus yang mendapatkan emulsi minyak dan AFB₁ ($p < 0,01$), antara yang mendapatkan

ekstrak-heksan meniran dan AFB₁ ($p < 0,01$) dan antara yang mendapatkan AFB₁ dan AFB₁ persamaan ekstrak-heksan meniran ($p < 0,01$).

Dari hasil tersebut ditunjukkan bahwa pemberian aflatoxin B₁ meningkatkan aktivitas *alanin aminotransferase* dalam serum yang bermakna ($p < 0,01$) dibandingkan dengan tikus kelompok lain. Tingginya aktivitas enzim tersebut dapat digunakan untuk petunjuk bahwa dalam jaringan tubuh tikus ada kelainan¹¹. Karena sasaran utama toksisitas aflatoxin B₁ adalah hati³, maka perlu diperiksa jaringan hatinya yaitu dengan melihat gambaran histologis.

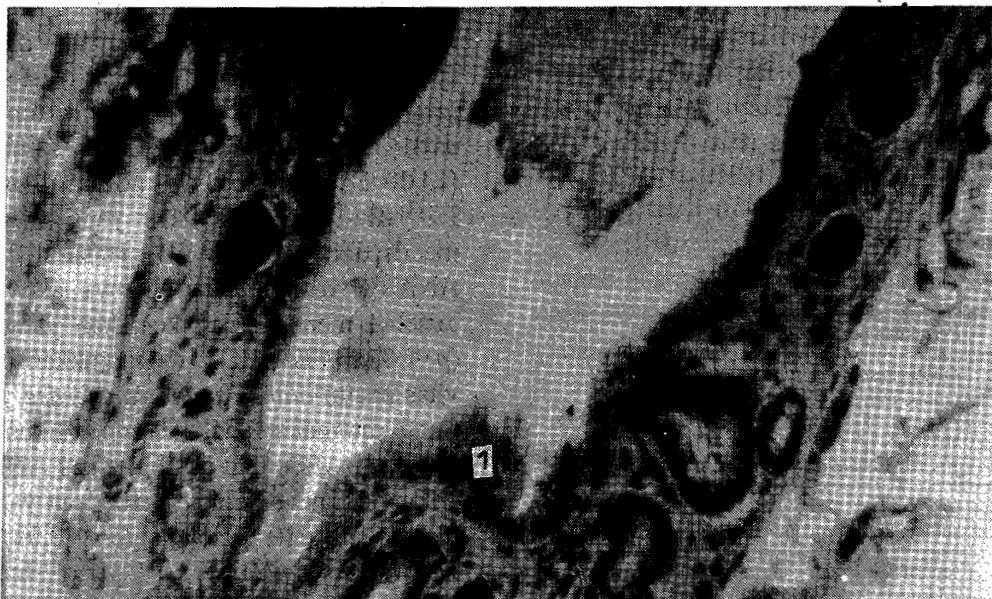
TABEL 2. - Aktivitas *alanin aminotransferase* dalam serum tikus pada akhir percobaan

Kelompok	N	<i>alanin aminotransferase</i> ($\bar{X} \pm 1 \text{ S.D. U/100 ml}$)	signifikansi
K I	4	9,60 \pm 0,28	K I - K II $p < 0,01$
K II	4	8,90 \pm 0,73	K II - K III $p < 0,01$
K III	4	13,00 \pm 1,23	K III - K IV $p < 0,01$
K IV	4	8,83 \pm 1,03	

TABEL 1 juga menunjukkan bahwa pemberian aflatoxin B₁ yang bersamaan dengan ekstrak-heksan herba meniran menunjukkan perbedaan aktivitas *alanin aminotransferase* dalam serum tikus yang tidak bermakna dengan tikus kontrol (tikus yang hanya mendapatkan emulsi minyak saja) dan tikus yang hanya mendapatkan ekstrak-heksan meniran saja. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak-heksan herba meniran dapat menurunkan kenaikan aktivitas *alanin aminotransferase* yang disebabkan oleh pemberian AFB₁.

Gambaran histologis jaringan hati tikus

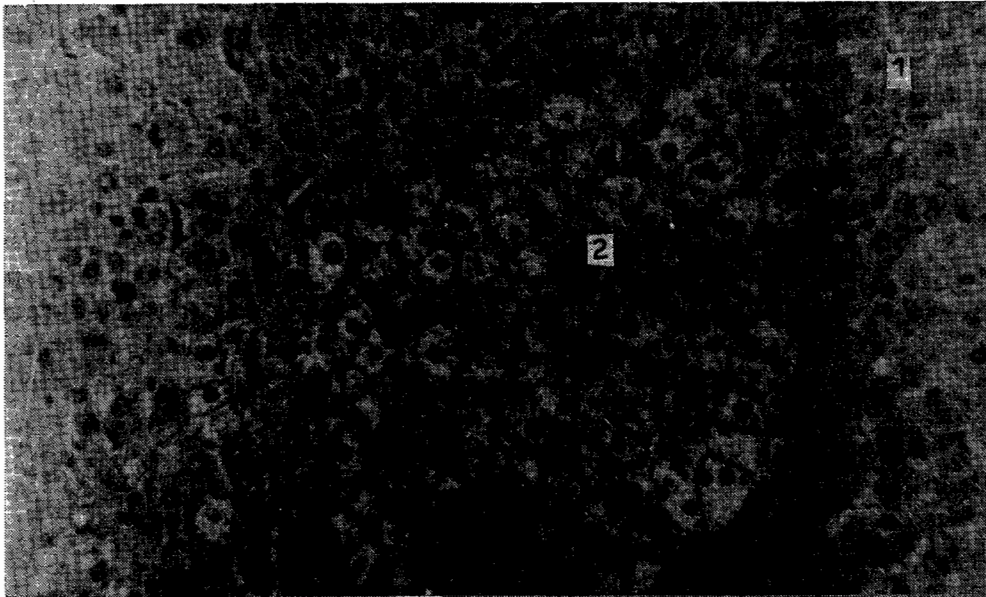
Kelompok tikus yang setiap harinya mendapatkan 1 ml emulsi minyak menunjukkan gambaran histologis sel-sel epitel pembuluh empedu dan hepatosit normal. Gambaran normal tersebut juga terjadi pada kelompok tikus yang setiap harinya mendapatkan 30 mg ekstrak-heksan herba meniran dalam 1 ml emulsi minyak. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa emulsi minyak dan ekstrak-heksan herba meniran tidak mengakibatkan kelainan pada jaringan hati tikus yang dalam penelitian ini didukung dengan hasil aktivitas *alanin aminotransferase* serum yang menunjuk-



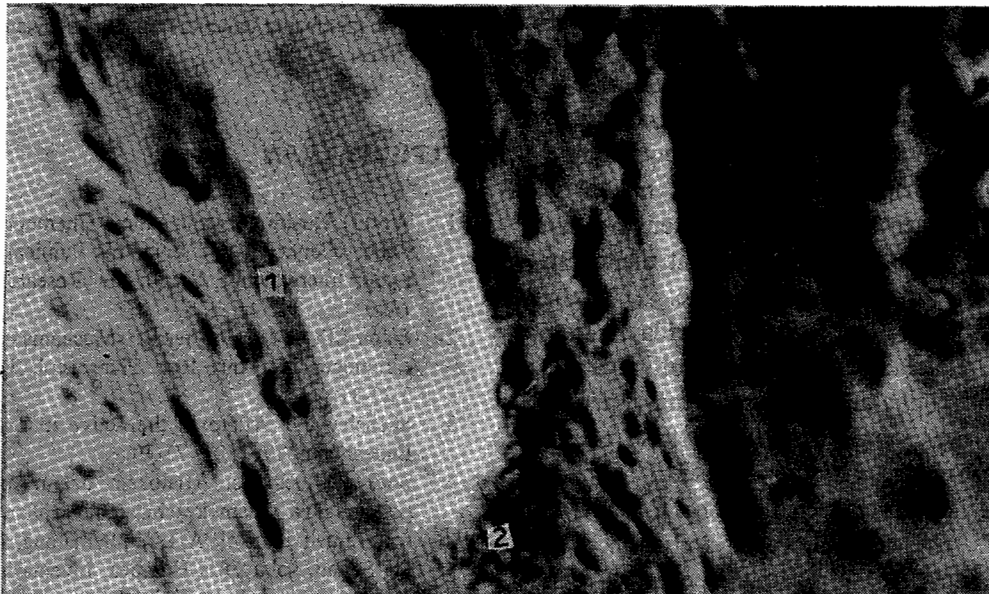
GAMBAR 1. - Gambaran sel-sel epitel pembuluh empedu tikus yang mendapatkan aflatoxin B₁
1. sel-sel epitel pembuluh empedu yang mengalami hiperplasi dan metaplasia

kan aktivitasnya dalam kisaran normal. Hasil ini juga mendukung laporan Sudarsono *et al.* bahwa herba meniran tidak toksis, mempunyai potensi antihepatotoksik¹².

Kelompok tikus yang mendapat AFB₁, gambaran histologis jaringan hatinya menunjukkan adanya kelainan yaitu sel-sel epitel pembuluh empedunya mengalami hiperplasi dan metaplasia



GAMBAR 2. – Gambaran histologis hepatosit tikus yang mendapat aflatoksin B₁
1. hepatosit normal; 2. lesi preneoplastik



GAMBAR 3. – Gambaran histologis sel-sel epitel pembuluh empedu tikus yang mendapat ekstrak-heksan herba meniran dan aflatoksin B₁. Pewarnaan H. & E., 40 X 40

1. sel-sel epitel pembuluh empedu normal
2. sel-sel epitel pembuluh empedu yang mengalami proliferasi

(GAMBAR 1) serta pada hepatositnya terdapat lesi preneoplastik (*altered foci*) (GAMBAR 2). Kelainan yang terjadi pada jaringan hati tikus akibat AFB₁ tersebut mendukung hasil penelitian Wiryatun Lestariana¹³. Lesi preneoplastik yang terjadi pada hepatosit tersebut tampak sama dengan lesi preneoplastik yang terjadi pada hepatosit tikus yang diinduksi dengan karbon tetraklorida⁶.

Kelompok tikus yang setiap hari mendapatkan AFB₁ dan ekstrak-heksan herba meniran, gambaran histologis sebagian sel-sel epitel pembuluh empedunya menunjukkan adanya proliferasi (GAMBAR 3), sedang hepatositnya menunjukkan gambaran hepatosit normal. Gambaran histologis ini menunjukkan bahwa ekstrak-heksan herba meniran dapat mencegah kerusakan sel hati yang disebabkan oleh efek toksik AFB₁. Syamasundar *et al.*⁶ dari hasil penelitiannya menunjukkan bahwa ekstrak-herba meniran mengandung senyawa antihepatotoksik seperti filantin, hipofilantin, triakontanol dan trikontanol. Akan tetapi dari senyawa-senyawa tersebut, senyawa mana yang dapat mencegah efek toksik AFB₁ perlu penelitian lanjutan. Penelitian lanjutan ini perlu dilakukan sebab hasil penelitian lain menunjukkan bahwa dari senyawa-senyawa tersebut yang dapat mencegah sitotoksitas kultur hepatosit tikus yang diinduksi oleh karbon tetraklorida dan galaktosamin adalah filantin dan hipofilantin. Sedangkan senyawa yang mempunyai potensi sebagai antihepatotoksik terhadap toksisitas yang diinduksi oleh galaktosamin hanya triakontanol⁶. Kemungkinan lain yang mempunyai potensi antihepatotoksik terhadap aflatoksinosis bukan senyawa-senyawa tersebut akan tetapi senyawa lain yang bersifat antioksidan yang dapat menghambat sistem enzim monooksigenase. Diketahui bahwa baik AFB₁, karbon tetraklorida maupun galaktosamin adalah senyawa xenobiotika yang di dalam tubuh mengalami biotransformasi menjadi metabolit reaktif yang dikatalisis oleh sistem enzim monooksigenase. Metabolit reaktif ini dapat membentuk ikatan kovalen dengan DNA, RNA, dan protein sel. Metabolit yang terbentuk hasil biotransformasi AFB₁ adalah epoksida-AFB₁. Epoksida ini sangat reaktif, sehingga ikatan kovalen epoksida-AFB₁ dengan DNA, RNA atau protein sel dapat mengakibatkan sel cedera, mutasi atau dan terjadinya kanker¹⁴.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil aktivitas *alanin aminotransferase* dalam serum tikus dan gambaran histologis jaringan hati tikus, maka dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa, ekstrak-heksan herba meniran dapat digunakan untuk mengurangi efek toksik aflatoksin B₁ dalam hati tikus

Saran

Mengingat ekstrak-heksan herba meniran mengandung berbagai senyawa aktif yang mempunyai potensi antihepatotoksik, maka perlu penelitian lanjutan dengan menggunakan masing-masing senyawa aktif yang dapat diisolasi dari ekstrak-heksan herba meniran tersebut agar dapat diketahui proses biokimiawinya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada:

1. Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta yang telah membantu biaya penelitian ini.
2. Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, yang telah membantu dalam pembuatan sediaan jaringan hati tikus.

KEPUSTAKAAN

1. World Health Organization. Chemopreventions in Cancer Control, IARC Scientific Publications No. 136. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1996
2. Eaton LD, and Gallagher EP. Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol*, 1994; 3:27-31.
3. Spensley PC. Aflatoxin the active in Turkey disease. *Endeavour*, 1963; 22: 75-79.
4. Soekeni Soedigdo. Aflatoksin dalam makanan serta pengaruhnya dalam kesehatan. Disajikan dalam ceramah Ilmiah di FPMIPA, IKIP, Semarang, 1984.
5. Sri Sugati, Johny Ria Hutapea. Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia, jilid I, Balitbang Kesehatan., Dep. Kes. R.I., Jakarta, 1991.
6. Syamasundar KV, Singh B, Thakur RS, Huasin A, Kiso Y, and Akino H. Antihepatotoxic principles of *Phyllanthus niruri* herbs. *Journal of Ethnopharmacology*, 1985; 14: 41-44.

7. Cotran RS, V. Kumar SL, Robbins. Cellular injury and cellular death. Pathologic Basis of Disease. 5th Ed. W.B. Saunders Company, 1994.
8. Huang YL, CC. Chen JC. Ou. Isolintetralin, A new lignan from *Phyllanthus niruri*. *Planta Med*, 1992; 58: 473.
9. Singh B, PK, Agrawal RS, Thakur. Isolation of transphytol from *Phyllanthus niruri* L. *Planta Med*, 1991; 57: 94-95 .
10. Anonim. Manual of Histologic and Special Staining Technics, Armed Forces Institute of General Pathology Laboratory. Walter Piced Medical. Washing- ton, D.C., 1957.
11. Rodwell VW. Structures and Function of proteins and enzymes in Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, (eds). Harper's Biochemistry 23rd Ed. A Lange Medical Book, Prentice-Hall Inc., 1993.
12. Sudarsono, Agus Pudjo Arinto, Didik Gunawan, Subagus Wahyuono, Imono Argo Donatus, et al., *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). Meniran dalam tumbuhan obat. Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan. PPOT, UGM, Yogyakarta, 1996; 99 -103.
13. Wiryatun Lestariana. Pengaruh kandungan vitamin A dalam ransum terhadap efek toksik aflatoksin B₁ pada tikus *Rattus norvegicus*. Disertasi S3 Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia, 1997.
14. Murray RK. Metabolism of Xenobiotic in Murray RK, Granne DK, Mayes PA, Rodwell VW, (eds). Harper's Biochemistry 23rd Ed. A Lange Medical Book, Prentice-Hall Inc., 1993.