

Pengaruh Madu *Bee Pollen* Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih *Rattus Novergiccus* Galur *Sprague Dawley* yang Diinduksi Ibuprofen

Bobi K Hartanto, Muhartono, Susianti
Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Tubuh kita memerlukan substansi penting yaitu antioksidan yang dapat melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Antioksidan tersebut terdapat pada madu *Bee pollen* yang mengandung fenol yang dapat mengobati hepar yang telah terinduksi ibuprofen. Ibuprofen bersifat hepatotoksik sehingga butuh suatu antioksidan untuk melindungi bahkan mengobati hepar yang telah diinduksi ibuprofen. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh madu *Bee pollen* terhadap gambaran histopatologi hepar tikus yang telah diinduksi Ibuprofen. Kerusakan hepar disini diukur dari jumlah sel hepar yang mengalami bengkak keruh untuk melihat tingkat kerusakan dari hepar tersebut dan dosis yang efektif dalam mengobati hepar yang telah diinduksi ibuprofen. Mekanisme dalam penelitian ini terdapat 24 sampel yang menjadi 4 kelompok. Kelompok A adalah kontrol normal (hanya diberikan ibuprofen). Kelompok B dengan pemberian ibuprofen dengan madu *Bee pollen* dengan setengah dosis anjuran 0,77 ml/kgBB. Kelompok C diberikan ibuprofen dan madu *Bee pollen* dosis anjuran (1,54 mL/kgBB tikus). Kelompok D diberikan ibuprofen dan madu *Bee pollen* sesuai dosis anjuran (2,08 mL/kgBB tikus). Perlakuan diberikan selama 14 hari. Tikus diterminasi dengan anastesi terlebih dahulu menggunakan *ketamine xylazine* secara IP, kemudian di euthanasia dengan metode *cervical dislocation* kemudian diambil organ hati dan selanjutnya dibuat preparat dilakukan pengecatan dengan *Hematoksilin-Eosin* (HE). Hasil penelitian ini menunjukkan terdapat pengaruh madu *Bee pollen* terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih *rattus novergiccus* galur *Sprague dawley* yang diinduksi ibuprofen..

Kata kunci : *Bee pollen*, fenol, ibuprofen, hepar

THE EFFECT OF *Bee pollen* HONEY ON HISTOPATHOLOGY IMAGING OF *Sprague Dawley* STRAIN WHITE RAT'S HEPAR THAT INDUCED BY IBUPROFEN

Abstract

Our body need an important substaces that is antioksidant that can protect it from a free radicals. Antioxidant can be found in *Bee pollen* honey that contains fenol that can heal hepar that inducted by ibuprofen. Ibuprofen has a poison to hepar that needs antioxidant to protecct even heal hepar that has inducted by ibuprofen as hepatotoxic. The purpose of this study was to see the effect of *Bee pollen* honey on histopathologic images of liver rats induced Ibuprofen.

A hepar damage here is counted by the amount of hepar cells that turbid- swollen to see the damage rate or hepar and the evecctive dose to heal hepar thar has inducted by ibuprofen. Mechanism in this study there were 24 samples that divided into 4 groups. Group A is the normal control (distilled ibuprofen). Group B is negative control (ibuprofen and distilled *Bee pollen* honey half of the recommended dose (0,77 mL/kg's rat). Group C were induced by ibuprofen and *Bee pollen* honey with recommended dose (1,54 mL/kg's rat). Group D were given ibuprofen and *Bee pollen* honey with the higher dose (2,08 mL/kg's rat). Treatment was given for 14 days. Rats terminated with anastesi first using *ketamine xylazine* by IP, then in euthanasia with *cervical dislocation* method and then taken liver The results show an effect of *Bee pollen* honey on histopathology imaging of *Sprague Dawley* strain white rat's hepar that induced by ibuprofen.

Keywords: *Bee pollen*, fenol, ibuprofen, hepar

Korespondensi : Bobi K Hartaanto, alamat Jl. Danau Mentana no 40 Kedaton Bandar Lampung, HP 082178547681, email bobihartanto02888@gmail.com

Pendahuluan

Penderita hepatitis C di dunia diperkirakan sebesar 170 juta orang. Sebanyak 1,5 juta penduduk dunia meninggal tiap tahunnya karena hepatitis.¹

Penyakit radang pada hati (hepatitis) merupakan masalah kesehatan masyarakat di

dunia terutama di Indonesia, yang terdiri dari hepatitis A, B, C, D dan E. Hepatitis A dan E sering muncul sebagai kejadian luar biasa. Ditularkan secara *fecal oral* dan biasanya berhubungan dengan perilaku hidup bersih dan sehat, bersifat akut dan dapat sembuh dengan baik. Sedangkan hepatitis B, C dan D selalu ditularkan melalui

parental, dapat menjadi kronis dan menimbulkan sirosis dan berakibat kanker hati. Penderita hepatitis C di dunia diperkirakan sebesar 170 juta orang. Sebanyak 1,5 juta penduduk dunia meninggal tiap tahunnya karena hepatitis.¹

Di Indonesia kasus sirosis hati banyak ditemukan pada pria dibandingkan wanita. Dari yang berasal dari beberapa rumah sakit di kota-kota besar di Indonesia menunjukkan bahwa penderita sirosis hati ini paling banyak diderita oleh pria daripada wanita dengan perbandingan antara 1,5 sampai 2 : 1. Pada rentang bulan Januari – Maret pada tahun 2009 di Rumah Sakit Koja Jakarta dari 38 penderita Sirosis hati, 63,7% laki-laki dan 36,7% wanita, terbanyak (55,3%) adalah kelompok usia 40-60 tahun.²

Prevalensi sirosis hati di Indonesia belum diketahui secara pasti, hanya berdasarkan pada penelitian-penelitian yang dilakukan di Rumah Sakit Umum Pemerintah.¹ Angka kematian akibat sirosis hati masih tergolong tinggi di Indonesia. Berdasarkan profil kesehatan DIY tahun 2008, sirosis hati masuk dalam sepuluh besar penyebab kematian tertinggi di provinsi DIY dengan prevalensi 1,87% pada urutan kesembilan.⁵ Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Karina di RSUP Dr. Kariadi Semarang pada tahun 2007 terdapat 637 pasien sirosis hati dengan angka kematian 9,7%.⁶ Kebanyakan pasien sirosis meninggal pada dekade keempat atau kelima kehidupan. Adapun perbandingan prevalensi sirosis pada lakilaki dan perempuan sekitar 2,1 : 1 dengan usia rata-rata 44 tahun.⁷

Perdarahan akibat pecahnya varises gastroesofagus (VGE) merupakan komplikasi yang berbahaya bagi pasien sirosis hati. Sayangnya, pasien sering kali datang dengan hematemesis atau melena dan baru kemudian terdiagnosis sirosis hati. Sejumlah penelitian telah dilakukan untuk mengetahui apa saja yang menjadi faktor resiko dari perdarahan berulang pada penderita sirosis hati. Faktor-faktor resiko yang menjadi penyebab dari sirosis hati telah diteliti adalah infeksi bakteri, jumlah ligasi, asam asetilsalisilat, asites, peningkatan bilirubin, pemakaian Obat Anti Inflamasi Non-Steroid (OAINS) dan sebagainya.

Pada peneliti melakukan penelitian mengenai konsumsi etanol pada fungsi hati mengemukakan tiga hal yang membuat resiko perdarahan antara lain peningkatan hipertensi

porta yaitu kerusakan hati yang ditimbulkan penyakit, faktor makanan, konsumsi etanol, irama sirkadian, olahraga fisik dan peningkatan tekanan intraabdomen; faktor yang melemahkan dinding varises seperti asam asetilsalisilat dan Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS; infeksi bakteri yang membuat pendarahan awal dan berulang.¹

Ibuprofen merupakan salah satu *Non Steroidal Anti Inflammation Drug* (NSAID) yang digunakan masyarakat umum sebagai analgesik dan antipiretik. Ibuprofen memiliki kecepatan absorpsi yang cepat sehingga dapat memberikan efek terapi yang cepat pula. Sifat kelarutan ibuprofen sangat kecil 46,9µg/mL pada 37°C dan 29,1µg/mL pada 25°C sehingga ibuprofen cepat diabsorpsi tubuh dan banyak dipakai untuk terapi demam atau analgesik.³ Sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh Madu *Bee pollen* terhadap histopatologi hepar tikus putih jantan galur *Spargue dawley* yang diinduksi ibuprofen.²

Pollen dan serbuk sari yang merupakan sel gamet jantan pada bunga yang merupakan nutrisi yang mengandung protein bagi lebah madu. Pada saat mengunjungi bunga untuk menghisap madu nya serbuk sari pada bunga diambil oleh lebah pekerja. Pada satu koloni lebah madu dalam periode 12 bulan akan mengkonsumsi 20-40 kg serbuk sari, tergantung kepada ukuran koloni dan ketersediaan serbuk sari. Serbuk sari akan menempel pada permukaan tubuh lebah madu, yang dibantu oleh sikat *pollen* yang ada pada kakinya dan air liur dari mulutnya yang nanti nya akan mengumpulkan butir-butir serbuk sari di dua kaki belakangnya (*corbiculata*). Pada *corbiculata*, terdapat struktur khusus yang membentuk *pollen basket* disebut³.

Pada beberapa penelitian madu *Bee pollen* memiliki kandungan sebagai anti radiasi yang dapat merusak kesehatan akibat paparan radikal bebas. Ini artinya madu efek dari madu *Bee pollen* bisa diharapkan. Tidak hanya sebagai penangkal radikal bebas, pada beberapa penelitian terhadap tikus yang diinduksi madu *Bee pollen* juga memiliki efek yang baik bagi fungsi hepar. Ekstrak *Bee pollen* yang diminumkan ke tikus dengan *carbaryl* sebagai bahan kimia yang bersifat racun bagi hepar. Pada percobaan dengan tikus yang diberikan *carbaryl* tanpa madu menunjukkan perubahan negatif yang besar pada enzim hepar sedangkan pada tikus

yang diberikan madu *Bee pollen* menunjukkan efek detoksifikasi sehingga hepar dapat terlindung dari efek racun *carbaryl*.⁴

Tabel 1. Hasil rata-rata degenerasi bengkak keruh pada hepar

Kelompok	Rata-rata degenerasi bengkak keruh hepar tikus
	Rata-rata Standar deviasi
A	170,5±21,964
B	59,67±15,268
C	29,67±5,154
D	14,16±2,429

Berikut adalah rerata degenerasi bengkak keruh pada hepar tikus putih. Kelompok A yang merupakan kelompok dengan perlakuan pemberian ibuprofen saja memiliki rerata 170,5. Kelompok B yang merupakan kelompok perlakuan 1 dengan pemberian ibuprofen selama 7 hari dengan 7 hari pemberian madu *Bee pollen* dengan dosis 0,77ml memiliki rerata 59,67. Kelompok C yang merupakan perlakuan pemberian ibuprofen selama 7 hari dengan madu *Bee pollen* dengan dosis 1,54 ml memiliki rerata 29,67. Pada kelompok D dengan pemberian ibuprofen selama 7 hari dengan pemberian madu *Bee pollen* dengan dosis 2,08 ml memiliki rerata 14,16.

Hasil rerata dari jumlah degenerasi bengkak keruh hepar tikus putih sudah dilakukan dianalisis normalitas datanya dengan menggunakan uji normalitas *Shapiro–Wilk*.

Tabel 2. Analisis *Shapiro–Wilk* jumlah degenerasi bengkak keruh pada hepar tikus putih

Kelompok	P
A	0,473
B	0,814
C	0,874
D	1,000

Pada uji homogenitas data dengan menggunakan uji *Levene* didapatkan nilai *significance* sebesar 0,04. Karenakan hasil dari uji *Levene* kurang dari 0.05 maka dapat disimpulkan bahwa data dari keempat kelompok tidak homogen.

Pada uji normalitas dan homogenitas, didapatkan hasil data yang normal, namun tidak homogen, maka dilanjutkan uji non-parametrik dengan menggunakan uji *Kruskal–*

Wallis. Pada uji *Kruskal–Wallis* didapatkan hasil *significance* (*p*) sebesar 0,001. Karena $p < 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa H_0 ditolak, artinya madu *Bee pollen* memiliki pengaruh terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi ibuprofen.

Tabel 3. Uji Test Post-Hoc dengan Mann Whitney

Kelompok	p-Significance
A dan B	0,004
A dan C	0,004
A dan D	0,004
B dan C	0,010
B dan D	0,004
C dan D	0,004

Dilakukan uji *Post Hoc* dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan antara kelompok. Hasil uji *Post-Hoc* pada kelompok A dan B memiliki *Significance* sebesar 0,004, pada kelompok A dan C memiliki *Significance* sebesar 0,004, pada kelompok A dan D memiliki *Significance* sebesar 0,004, pada kelompok B dengan kelompok C memiliki *Significance* sebesar 0,010, pada kelompok B dan D memiliki *Significance* sebesar 0,004 sedangkan pada kelompok C dan D memiliki *Significance* sebesar 0,004. Dari hasil uji *Post hoc* ditemukan nilai *significance*.

Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan hasil yaitu madu *Bee pollen* memiliki pengaruh terhadap jumlah sel degenerasi bengkak keruh pada hepar tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi ibuprofen. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Dewi, 2010) mengemukakan bahwa pemberian madu dengan dosis anjuran dapat mengurangi kerusakan hepar mencit akibat pemberian ibuprofen (Dewi, 2010).

Madu *Bee pollen* memiliki kandungan yang baik untuk organ hepar yaitu kandungan antibakteri, antiinflamasi dan antioksidan. Efek antibakteri pada hepar membuat lingkungan pada organ hepar atau organ lainnya seperti gaster memiliki kondisi yang tidak adekuat dalam perkembangan bakteri gram positif maupun gram negatif. Efek antiinflamasi dari madu *Bee pollen* bekerja langsung dalam peningkatan kadar malondialdehid (MDA) dan proteksi lipid yang dapat menurunkan sel-sel radang. Sedangkan efek antioksidan pada madu khususnya fenol

dapat mempertahankan aktivitas Spesies Oksigen Reaktif (SOR) yang merupakan pembawa pesan dari respon inflamasi¹³.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (Mustaba, Winaya, & Berata, 2012) yang menggunakan madu hutan untuk penyembuhan dari organ hepar memiliki hasil yang baik dalam penyembuhan hepar.

Pada gambaran histopatologi sel hepar pada tikus menunjukkan perbedaan bermakna pada kelompok A yang merupakan kelompok kontrol dengan ketiga kelompok lainnya. Kelompok yang memiliki jumlah sel hepar yang mengalami bengkak keruh terdapat pada kelompok A yang hanya diberikan ibuprofen selama 14 hari dengan rerata $170,5 \pm 21,964$. Ini terjadi dikarenakan tidak dilakukannya pemberian madu *Bee pollen* selama dilakukannya penelitian. Sedangkan kelompok yang memiliki jumlah bengkak sel keruh yang paling sedikit terdapat pada kelompok D dengan pemberian madu *Bee pollen* dengan dosis tertinggi yaitu 2,08 ml dan memiliki rerata $14,16 \pm 2,429$. Pada 7 hari berikutnya tikus kelompok D diberikan madu *Bee pollen* dengan dosis 2,08 ml. *Bee pollen* memiliki kandungan vitamin dan mineral yang cukup lengkap yang dapat menunjang dari proses penyembuhan yang dilakukan oleh madu hutan diantaranya; vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin B5, vitamin B6, vitamin B9, vitamin C, vitamin E, seng (Zn), kalium (K), magnesium (Mg), fosfor (P), natrium (Na) dan cupri (Cu). Serta kandungan lain seperti flavonoid, fitosterol, fenilamin, lisin, falin, asam alfa linoleik, dan polifenol. Diharapkan dengan adanya kombinasi dari madu hutan dan serbuk sari bunga *pollen* dalam bentuk madu *Bee pollen* dapat memberikan efek penyembuhan pada hepatotoksisitas imbas obat secara optimal (Bogdanov, 2015).

Gambaran histopatologi hepar tikus pada kelompok D dinilai paling baik diantara kelompok perlakuan lain, namun masih terdapat sel hepar yang mengalami degenerasi bengkak keruh. Hal ini dapat terjadi diperkirakan karena dosis madu *Bee pollen* yang masih kurang efektif, waktu terapi yang kurang lama atau kerusakan hepar bawaan dari tikus putih itu sendiri.

Gambaran histopatologi hepar terburuk terdapat pada kelompok A dengan jumlah sel hepar yang mengalami degenerasi bengkak keruh berkisar antara 121-191. Kondisi ini terjadi

dikarenakan induksi hanya menggunakan ibuprofen saja tidak ada induksi madu *Bee pollen* yang bersifat sebagai penyembuh.

Manfaat madu *Bee pollen* juga dapat menghilangkan rasa letih, lesu, lelah, dapat menurunkan tekanan darah tinggi dan sebagai penghilang gejala radang pada tubuh. Madu *Bee pollen* secara spesifik memiliki fungsi yang baik untuk mengatasi gangguan hepar¹³. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian yang telah dilakukan Erguder pada tahun 2008 yang mengemukakan bahwa madu dapat mengurangi kerusakan hepar akibat obstruksi duktus biliaris komunis dan akibat kista yang ditimbulkan di cacing hati. Madu memiliki kandungan gizi yang cukup lengkap

Pada hasil penelitian yang telah dilakukan Dewi (2010) tidak sejalan. Hal ini berarti madu dengan 0,2 ml selama 14 hari berturut-turut belum dapat memberikan efek penyembuhan yang baik terhadap kerusakan hepar yang disebabkan oleh ibuprofen. Dalam dosis tersebut, madu belum menunjukkan pengaruhnya dalam menyembuhkan sel hepar atau mengembalikan kondisi hepar seperti pada hepar kelompok kontrol yang mempresentasikan kondisi hepar dalam kondisi yang normal. Hal ini dapat terjadi karena kurangnya dosis madu yang diberikan, waktu pemberian madu yang kurang lama sehingga madu belum mampu menunjukkan efek kuratif bagi hepar (Dewi, 2010).

Tubuh kita memerlukan suatu substansi penting yakni antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan meredam dampak negatif senyawa ini. Namun, hal ini tergantung terhadap pola hidup dan pola makan kita yang harus benar. Konsumsi antioksidan yang memadai dapat mengurangi terjadinya berbagai penyakit seperti kanker, kardiovaskuler, katarak, masalah pencernaan serta penyakit degeneratif lain (Oka *et al.*, 2010)

Pada penelitian ini ditemukan beberapa kesulitan diantaranya sulitnya menginduksi tikus dikarenakan sifat alamiah tikus yang tidak kooperatif pada saat proses penginduksian sehingga beberapa tikus mengalami cedera pada saat penginduksian dan tereksklusi dari sampe penelitian.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, terbukti bahwa madu *Bee pollen* dengan dosis 2,08 ml/kgBB tikus dapat memberikan pengaruh pada hepar tikus putih

jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi ibuprofen, namun hasil penyembuhan yang didapatkan belum sempurna, karena masih terdapat sel hepar. yang mengalami degenerasi bengkak keruh, walaupun dalam jumlah yang minimal. Dengan ini, madu *Bee pollen* terbukti dapat digunakan sebagai obat alternatif bagi masyarakat yang sulit terjangkau oleh fasilitas kesehatan. Selain efikasi yang baik, madu *Bee pollen* lebih murah dan terjangkau, serta aman untuk dikonsumsi.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik beberapa simpulan sebagai berikut yaitu Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa madu *Bee pollen* memiliki pengaruh terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi ibuprofen.

Daftar Pustaka

1. Hamidy Y, Malik Z, Machyar RM., Gambaran histologi kerusakan hati mencit yang di proteksi dengan air rebusan daun sirih piper betle linn. *Jurnal Ilmu Kesehatan* 3(1),2008; 40–8.
2. Dewi MR. Pengaruh hepatoprotektor madu terhadap kerusakan histologis sel hepar mencit (*Mus musculus*) yang diberi perlakuan natrium siklamat. *Jurnal Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran*, 2010; 45(1), 16-22
3. Fajariyah S, Utami E T, Arisandi, Y. Efek Pemberian estrogen sintetis (Diethylstilbestrol) terhadap struktur hepar dan kadar SGOT dan SGPT pada mencit (*Mus musculus*) betina Strain Balb ' C The effect of synthetic estrogen on hepar structure and level of SGOT and SGPT of balb ' C female m, (Gmikro), 2006; 76–82. Widowati R. Substitute pollen pengganti serbuk sari. *Jurnal WIDYA Kesehatan Dan Lingkungan*, 2013, 31-36.
4. Guyton AC. Buku ajar fisiologi kedokteran edisi 11. Jakarta: EGC. 2008
5. Mustaba R, Winaya IO, Berata IK. Studi histopatologi lambung pada tikus putih yang diberi madu sebagai pencegah ulkus lambung yang diinduksi aspirin. *Indonesia Medicus Veterinus*, 1(4), 2012; 471–482.
6. Husnayain KI. Pengaruh ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L*) terhadap kadar glutathion jaringan hepar tikus (*Rattus norvegicus L.*) yang diinduksi 2014; 7,12 dimethylbenz(a) anthracene (dmba). *Skripsi Digilib Unila*, 29-40.
7. Jayavelu A, et al. Hepatoprotective activity of *Boerhavia diffusa* linn . (Nyctaginaceae) against ibuprofen induced hepatotoxicity in wistar albino rats. 2013; 2(April), 1–8.
8. Loho I, Hasan I. Drug induced liver injury - tantangan dalam diagnosis. 2012; 41(3), 167–70.
9. Kassim M. Gelam honey has a protective effect against Lipopolysaccharide (LPS) induced organ failure. 2013; 6370–81.
10. Mescher AL. Buku histologi dasar Junquiera teks dan atlas edisi 12. 2012 Jakarta: EGC.
11. Pengaruh ekstrak antanan (*Centella asiatica*) dibandingkan dengan ibuprofen terhadap kadar hcl gaster tikus. *Jurnal Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani*.
12. Novilla, A. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Propolis Lebah Madu Lokal Apis melifera. *Jurnal kesehatan Kartika*. 2010; 53–62.
13. Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. *The FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2008; 22(3), 659–61.
14. Mujetahid MA. Teknik pemanenan madu lebah hutan. 2014; 4(1), 36–40.
15. Molan PC. The evidence supporting the use of honey as a wound dressing. *The international journal of lower extremity wounds*, 5(1), 2009; 40–54.
16. Oka AP, Ratnayani K, Ana L. Aktivitas antiradikal bebas serta kadar beta karoten pada madu randu (*Ceiba pentandra*) dan madu kelengkeng (*Nephelium longata L.*). *Jurnal Kimia*, 4(1), 2010; pp.54–62.
17. Retnowati D, Setyawan D. Peningkatan disolusi ibuprofen dengan sistem dispersi padat ibuprofen. *Farmasi Airlangga* 2010 ; 8(1), 36–43.
18. Tirunagari S, Shaik D. Hepatocellular carcinoma. *WebmedCentral CLINICAL TRIALS*, 4(3). 2013

19. Ridwan E. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. *Ikatan Dokter Indonesia*, 2013; 63, 112–6.
20. Sastroasmoro S. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Jakarta: CV.2008 . Sagung Seto.
21. Widjaja FF, Karjadi T. Pencegahan perdarahan berulang pada pasien sirosis hati. *Jurnal Indon Med Assoc*, 2011; 61(10), 417–24.