



Tersedia daring pada: <http://ejurnal.undana.ac.id/jvn>

## Efek Terapi Pemberian Vitamin E Terhadap Kerusakan Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Dexamethasone

Padre Pio Kendok<sup>1</sup>, Nemay Anggadewi Ndaong<sup>2</sup>, Meity Marviana Laut<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang

<sup>2</sup>Departemen Anatomi, Fisiologi, Farmakologi dan Biokimia, Universitas Nusa Cendana, Kupang

### Abstract

:	The purpose of this study was to determine whether or not there was a therapeutic effect of vitamin E administration on dexamethasone-induced kidney histopathological damage of white rats. This study used 20 white rats ( <i>Rattus norvegicus</i> ) aged 2-3 months with a body weight of 200 grams divided into 5 groups, namely negative control (K) without dexamethasone and vitamin E, positive control group (P0) given dexamethasone subcutaneously at a dose of 0.13 mg / Kg BB, treatment group 1 (P1) given dexamethasone subcutaneously at a dose of 0.13 mg / Kg body weight and vitamin E orally at a dose of 150 mg / Kg body weight, treatment group 2 (P2) given dexamethasone subcutaneously at a dose of 0.13 mg / Kg body weight and vitamin E orally at a dose of 200 mg / Kg body weight, and treatment group 3 (P3) given dexamethasone subcutaneously at a dose of 0.13 mg / Kg body weight and vitamin E orally at a dose of 250 mg / kg body weight. Adaptation is carried out for 7 days. Experimental animals are then terminated and kidney organs are taken to make histopathological preparations with HE staining then the preparations are observed under a microscope. The observed parameter is damage to the glomerulus and proximal tubules of the kidneys. The results showed that dexamethasone was able to damage the kidneys characterized by necrosis of the glomerulus and hydropic degeneration of the proximal tubules of the kidneys shown in the positive control group (P0). In the group given vitamin E, only the P3 group with a dose of vitamin E 250 mg / kg body weight was able to provide a therapeutic effect on damage to the glomerulus and renal tubules due to the toxic effects of dexamethasone.
<b>Keywords:</b> Necrosis, Degeneration, Glomerulus, Tubules	Hydropic  Renal
Korespondensi: <a href="mailto:padrepio1507@gmail.com">padrepio1507@gmail.com</a>	

## PENDAHULUAN

Penggunaan obat yang rasional pada hewan dilakukan dengan tujuan agar obat yang diberikan menghasilkan efek yang sesuai dengan efek samping seminimal mungkin (Munaf, 2008). Pengobatan yang rasional merupakan suatu proses yang kompleks dan dinamis, dimulai dari diagnosis, pemilihan dan penentuan dosis obat, penyediaan dan pelayanan obat, petunjuk pemakaian obat, bentuk sediaan yang tepat, cara pengemasan, pemberian label, dan kepatuhan penggunaan obat oleh penderita. Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 14/PERMENTAN/PK.350/5/2017 tentang klasifikasi obat hewan adalah sediaan yang dapat digunakan untuk mengobati hewan, membebaskan gejala, atau memodifikasi proses kimia dalam tubuh yang meliputi sediaan biologik, farmasetik, premiks, dan sediaan obat alami. Obat dikatakan rasional dilakukan dengan tujuan agar obat yang diberikan tepat pada sasarannya dengan efek samping seminimal mungkin (Munaf, 2008).

Kortikosteroid merupakan kelompok hormon steroid alami yang dihasilkan

oleh kelenjar korteks adrenal. Penggunaannya efektif untuk berbagai gangguan inflamasi dan autoimun (Tjai and KR., 2007). Dexamethasone adalah obat golongan kortikosteroid dan dikategorikan sebagai obat keras yang diresepkan oleh dokter yang secara umum digunakan pada saat kondisi peradangan. Dalam bidang kedokteran hewan, dexamethasone digunakan sebelum dan sesudah operasi untuk membantu penyembuhan dan mencegah infeksi. Pemberian dexamethasone apabila disalahgunakan dapat menimbulkan infeksi yang hasilnya sudah dilakukan oleh Rabiah *et al* (2015) yang menerangkan bahwa pemberian dexamethasone dapat menyebabkan kerusakan pada ginjal yakni kondisi Nekrosis Tubular Akut (NTA) ditandai dengan adanya dekstruksi pada epitel tubulus ginjal.

Ginjal memiliki fungsi sebagai organ ekskresi dan non ekskresi. Sebagai organ ekskresi, ginjal memiliki fungsi untuk mengekskresikan produk sisa metabolisme dan bahan kimia asing, pengaturan keseimbangan air dan elektrolit, pengaturan keseimbangan asam dan basa, pengaturan osmolaritas

cairan tubuh, sekresi dan ekskresi hormon dan glukoneogenesis. Fungsi ginjal sebagai non-ekskresi ialah sintesis dan aktifasi hormon, mensekresi renin yang memiliki peranan dalam pengaturan tekanan darah, menghasilkan eritropoetin yang berperan dalam merangsang produksi sel darah merah oleh hematopoetik sumsum tulang (Guyton and Hall, 2014). Peningkatan ekskresi sisa-sisa metabolit, dapat menyebabkan kerusakan ginjal, karena keracunan yang diakibatkan kontak dengan bahan-bahan tersebut. Kerusakan jaringan ini bila dibiarkan dapat mengakibatkan gagal ginjal yang berakhir dengan kematian (Almunawati *et al.*, 2017).

Untuk memperbaiki kerusakan ginjal akibat dexamethasone, diperlukan antioksidan agar dapat melindungi sel-sel pada organ akibat toksisitas obat. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif adalah radikal bebas, senyawa ini terbentuk di dalam tubuh dan dipicu oleh bermacam-macam faktor. Vitamin E sebagai antioksidan secara umum berfungsi

sebagai donor ion hidrogen yang mampu merubah radikal peroksil menjadi radikal tokoferol yang kurang reaktif, sehingga tidak mampu merusak rantai asam lemak (Winarsi, 2007). Menurut Healthline (2019), vitamin E memiliki fungsi sebagai antioksidan dan pelindung sel-sel tubuh dari kerusakan.

## METODE

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Januari hingga Februari tahun 2023. Penelitian dilakukan di Laboratorium Anatomi, Fisiologi, Farmakologi, dan Biokimia (AFFB), Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana dan pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Kartini Kota Baru Kupang serta pengamatan preparat histopatologi di laboratorium AFFB, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana.

Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus putih jantan dalam kondisi sehat dengan kisaran berat badan hingga 200 gram. Hewan coba dibagi dalam 5 kelompok yakni 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan. Jumlah hewan coba didapatkan berdasarkan rumus

Federer yaitu  $(n - 1)(t - 1) \geq 15$  dengan keterangan n adalah jumlah replikasi tiap perlakuan dan t adalah perlakuan.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tabung reaksi, rak tabung, beaker glass, pipet ukur, cawan petri, spuit ukuran 1 ml (Terumo) timbangan digital (CL3®), timbangan analitik (Ohaus), mikrotom Histo-Line Laboratories, gelas objek One Med®, pinset, scalpel, mikroskop cahaya, mikroskop kamera, masker One Med®, glove, kandang tikus putih, Laptop, kamera HP Xiaomi Redmi Note 9 Pro. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan dan minum mencit, Dexamethasone injeksi produksi PT PHAPROS Tbk, Vitamin E Introvit-E-Selen®, Larutan *Neutral Buffer Formalin* 10% (NBF), parafin cair, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 95%, alkohol absolut, Hematoxillin dan Eosin (HE), minyak emersi.

Jenis penelitian dalam kegiatan ini adalah *True Experimental* (eksperimen sesungguhnya) yang terdiri dari 5 kelompok perlakuan yakni Kontrol negatif tidak diberi dexamethasone dan vitamin E,

Kelompok P0 (kontrol positif) kelompok perlakuan yang diberi dexamethasone jalur subkutan dengan dosis 0,13 mg/Kg BB, Kelompok P1 (kelompok perlakuan 1) yaitu kelompok yang diberi dexamethasone jalur subkutan dan vitamin E jalur per oral dengan dosis 150 mg/Kg BB, Kelompok P2 (kelompok perlakuan 2) yaitu kelompok yang diberi dexamethasone jalur subkutan dan vitamin E jalur per oral dengan dosis 200 mg/Kg BB, Kelompok P3 (kelompok perlakuan 3) yaitu kelompok yang diberi dexamethasone jalur subkutan dan vitamin E jalur per oral dengan dosis 250 mg/Kg BB.

Hewan coba diadaptasikan selama 7 hari. Pada hari ke 8 hingga hari ke 14, dexamethasone diberikan 2 X sehari selama 7 hari secara injeksi subkutan dengan dosis 0,13 mg/kg BB untuk empat kelompok perlakuan selain dari pada kelompok kontrol negatif. Setelah pemberian deamethasone, diberikan vitamin E jalur injeksi per oral dengan dosis bertingkat pada tiga kelompok perlakuan yaitu kelompok P1 dengan dosis 150 mg/Kg BB, kelompok P2 dengan dosis 200 mg/Kg BB, kelompok P3 dengan dosis 250 mg/Kg

BB. Vitamin E diberikan 1 X Selama 7 hari pada hari ke-8 hingga hari ke-14.

Pada hari dua puluh dua setelah perlakuan, 5 kelompok tikus putih diterminasi dengan cara dislokasi Os cervicalis dan diambil organ ginjalnya. Ginjal yang sudah dikoleksi selanjutnya direndam dalam larutan *Neutral Buffer Formalin* 10% (NBF) minimal 24 jam atau satu hari perendaman. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan melalui beberapa tahapan diantaranya adalah Dehidrasi jaringan ginjal dalam larutan alkohol konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%, absolut), masing-masing selama 60 menit, kemudian dibersihkan (*clearing*) dengan larutan xylol sebanyak 3 kali pemindahan masing-masing selama 45 menit pada suhu kamar. Proses selanjutnya adalah infiltrasi dalam larutan parafin sebanyak 3 kali, pemindahan masing-masing 60 menit pada suhu 60°C dan penanaman jaringan (*embedding*) dalam paraffin cair, kemudian didinginkan dalam suhu kamar sehingga menjadi blok parafin. *Sectioning* jaringan dilakukan dengan menggunakan *rotary microtome* dengan ketebalan 5 $\mu$ m, selanjutnya direnggangkan pada permukaan air hangat dengan suhu 45°C pada *tissue*

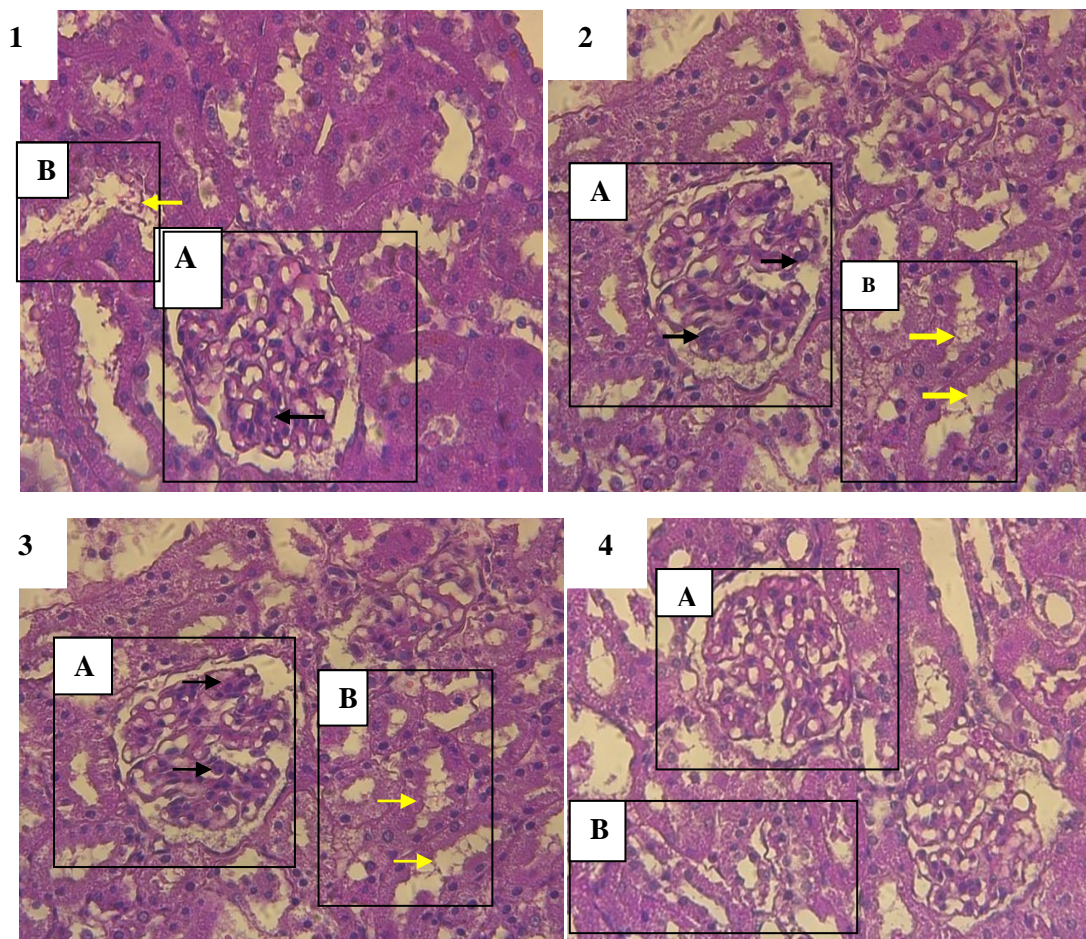
*floating bath*, dan ditempel pada *coated slide*. Preparat dikeringkan dengan posisi vertikal suhu kamar, kemudian diletakan dengan posisi horizontal pada slide warmer selama 12 jam dengan suhu 37°C sampai menempel pada gelas objek (Muntiha, 2001). Kemudian dilakukan pewarnaan Hematoxillin dan Eosin yang diawali dengan tahap awal proses pewarnaan Hematoxillin dan Eosin adalah deparafinisasi dan rehidrasi dengan alkohol konsentrasi bertingkat (absolut, 95%, 90%, 80%, 70%). Sediaan lalu direndam dalam larutan Hematoksilin selama 10 menit dan dibilas dengan air mengalir selama 10 menit, selanjutnya sediaan direndam dengan eosin selama 10 menit, kemudian didehidrasi dengan alkohol konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%, dan absolut) kemudian *clearing* dengan xylol I, xylol II, xylol III masing-masing selama 30 detik. Setelah pewarnaan selesai, kemudian sediaan ditetesi perekat canad balsam dan dengan gelas penutup serta dikeringkan (Ndaong., 2013). Setelah dilakukan preparat, diikuti dengan pembacaan hasil yang dilakukan dengan mengamati kerusakan pada glomerulus dan tubulus pada setiap

kelompok perlakuan selain dari pada kelompok kontrol.

Variabel *independen* (variabel bebas) dalam penelitian ini adalah dosis pemberian dexamethasone dan vitamin E sedangkan variabel *dependen* (terikat)

adalah efek terapi pemberian vitamin E terhadap kerusakan histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dexamethasone. Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk gambar.

## HASIL DAN PEMBAHASAN



**Gambar 1.** Histopatologi Ginjal Tikus Putih kelompok kontrol positif P0 (HE, 40X).

**Gambar 2.** Histopatologi Ginjal Tikus Putih kelompok P1 (HE, 40X). **Gambar 3.**

Histopatologi Ginjal Tikus Putih kelompok P2 (HE, 40X). **Gambar 4.** Histopatologi

Ginjal Tikus Putih kelompok P3 (HE, 40X).

Berdasarkan hasil pengamatan pada keempat gambar diatas, kelompok kontrol positif (P0) membuktikan bahwa pemberian dexamethasone dengan dosis 0,13 mg/Kg BB dapat memberikan efek buruk terhadap ginjal berupa adanya nekrosis (panah hitam) dan degenerasi hidropik (panah kuning). Nekrosis adalah kematian sel atau jaringan pada organisme hidup yang ditandai dengan adanya perubahan morfologi sebagai tindakan degradasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang terjejas (Pramono, 2012). Nekrosis merupakan perubahan yang prosesnya bersifat irreversible dimana sel yang mengalami nekrosis tidak dapat lagi kembali seperti semula sehingga hepatosit tidak dapat kembali ke bentuk normal hingga pada akhirnya menyebabkan nekrosis, sel akan mengalami kematian (Maulida *et al.*, 2013). Kematian sel dapat terjadi melalui proses apoptosis dan nekrosis sel. Apoptosis merupakan proses kematian sel yang terencana atau terprogram, sedangkan nekrosis dicirikan dengan adanya sel radang. Nekrosis dapat bersifat lokal atau difus, yang disebabkan oleh keadaan iksemia, anemia, kekurangan oksigen, bahan-bahan radikal bebas, dan gangguan

peptida (Lu, 1995). Proses kerusakan sel diawali dengan kerusakan pada organ-organ sel dan penggumpalan kromatin. Dalam kasus kerusakan sel yang lebih akut, mula-mula ditandai dengan inti sel mengalami kondensasi atau pengentalan (piknosis) yang pada Gambar (1), (2), dan (3) ditandai dengan perubahan intinya yaitu inti tampak lebih padat dan warnanya gelap. Setelah mengalami piknosis, akan terjadi kariolisis dan diikuti dengan pecahnya inti sel (karioreksis) (Zachary *et al.*, 2012). Nekrosis dapat disebabkan oleh produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berlebihan akan berikatan dengan lipid, protein dan atau DNA sehingga terjadi kematian sel (Kumar *et al.*, 2007).

Kondisi kerusakan pada organ ginjal akibat dari paparan zat toksik dapat diartikan sebagai kondisi yang disebut dengan nekrosis tubular akut (NTA). Kondisi ini secara histologi dapat dilihat dengan adanya destruksi atau pecahnya sel epitel tubulus proksimal dimana penggundulan sel tubulus ginjal yang tidak merata atau menyebar dengan hilangnya batas sikat, pendataran sel-sel tubular ginjal karena dilatasi tubular; pembentukan cetakan intratubular, dan peluruhan sel, yang

bertanggung jawab untuk pembentukan gips granular hal ini menyebabkan obstruksi intratubular karena epitel gundul dan puing-puing seluler terlihat jelas. Sel epitel tubulus proksimal peka terhadap anoksia dan mudah hancur karena keracunan akibat kontak dengan bahan-bahan yang diekskresikan melalui ginjal (Suhita *et al.*, 2013)

Degenerasi hidropik merupakan tingkat kerusakan struktur ke-2 yang ditandai ciri-ciri yaitu sitoplasma mengalami vakuolisasi, vakuola-vakuola nampak jernih. Ketika dexamethasone sudah merusak ginjal, kondisi ini akan memicu adanya kerusakan sel dimana pembentukan ATP dapat terganggu. Apabila terjadi kekurangan ATP, energi yang dibutuhkan untuk pompa natrium kurang yang mana nantinya akan berpengaruh pada terjadinya peningkatan permeabilitas di membran plasma sehingga natrium yang masuk semakin banyak yang mengakibatkan pompa natrium bekerja terlalu keras untuk mengeluarkan natrium agar ion intrasel tetap seimbang namun karena energi semakin berkurang akibat kekurangan ATP maka pompa natrium akan mengalami kerusakan. Hal ini menyebabkan kadar natrium di dalam sel

meningkat sehingga menyebabkan peningkatan jumlah air untuk menyeimbangkan kondisi agar tetap isoosmotik, tetapi akhirnya hal tersebut mengakibatkan pembengkakan pada sel (Strayer dan Rubin, 2013).

Pada Gambar (2) kelompok perlakuan 1 (P1) dan Gambar (3) kelompok perlakuan 2 (P2) yang masing-masing diberi vitamin E masing-masing dengan dosis 150 mg/Kg BB dan 200 mg/Kg BB menunjukkan kondisi yang sama dengan kelompok kontrol positif (P0) dimana masih terdapat kerusakan pada ginjal berupa nekrosis dan degenerasi hidropik pada area glomerulus dan tubulus. Kondisi yang sama ini dapat disimpulkan bahwa pemberian vitamin E dengan dosis 150 mg/Kg BB dan 250 mg/Kg BB dikatakan belum mampu memperbaiki kerusakan sel akibat pemberian dexamethasone. Kelompok perlakuan 3 (P3) yakni Gambar (3) diatas, dimana vitamin E diberikan dengan dosis 250 mg/Kg BB menunjukkan bahwa adanya perubahan yang berbeda dengan dua kelompok yang diberi vitamin E yakni sudah menunjukkan adanya perubahan yang ditandai dengan nekrosis dan degenerasi hidropik pada glomerulus dan tubulus



proksimal sudah minimal. Kelompok perlakuan 3 (P3) ini menunjukkan bahwa efek terapi yang diberikan sesuai dengan pernyataan Rabiah *et al* (2015) yang menyatakan bahwa pemberian vitamin E dengan dosis lebih tinggi dapat menurunkan tingkat kerusakan pada organ ginjal yang mana antioksidan dapat mempertahankan integritas dalam membran sel. Vitamin E yang berfungsi sebagai antioksidan berfungsi sebagai donor ion hidrogen yang mampu mengubah radikal peroksil menjadi radikal tokoferol yang kurang reaktif sehingga tidak mampu merusak rantai asam lemak (Wardlaw and Jeffrey, 2007).

Vitamin E masuk dalam sel dapat terjadi melalui proses yang dibantu oleh reseptor *Low Density Lipoprotein* (LDL) dimana LDL akan membawa vitamin ini

ke dalam sel), atau melalui proses yang dibantu oleh lipoprotein lipase (vitamin E dilepaskan dari kilomikron dan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL). Di dalam sel, transpor intraseluler dari tokoferol membutuhkan protein pengikat tokoferol intraseluler. Vitamin E sebagian besar terdapat pada membran sel dimana dapat dimobilisasi (Mahan *et al.*, 2004 and Sareharto, 2010). Lipoprotein merupakan alat transportasi plasma vitamin E sehingga sel ginjal dapat berinteraksi dengan reseptor khusus. Interaksi ini diawali oleh *Low Density Lipoprotein* (LDL) sebagai reseptor vitamin E (Traber *et al.*, 2007). Sel ginjal juga dapat berinteraksi dengan *High Density Lipoprotein* (HDL), dan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) (Guthmann *et al.*, 1997).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa dexamethasone dengan dosis 0,13 mg/Kg BB memberikan efek toksik pada ginjal berupa kerusakan pada glomerulus dan tubulus proksimal yang ditandai dengan

nekrosis dan degenerasi hidropik. Efek terapi pemberian vitamin E dengan dosis 150 mg/Kg BB dan 200 mg/kg BB belum mampu memperbaiki kerusakan sel akibat dari toksisitas obat akibat dari pemberian dexamethasone namun efek

terapi tampak nyata terlihat pada kelompok perlakuan 3 (P3) dengan dosis anjuran pemberian vitamin E 250 mg/Kg BB mampu memperbaiki kerusakan akibat induksi dexamethasone.

## DAFTAR PUSTAKA

- Almunawati, Budiman, H., & Aliza, D. 2017. Histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinjeksi formalin. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 1(3), 424–431.
- Guyton A. C., Hall J. E. 2014. *Ginjal dan Cairan Tubuh*. Dalam: *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi XI. Jakarta: EGC, pp 307-9.
- Guthmann, F., Harrach-Ruprecht, B., Looman, A.C., Stevens, P.A., Robenek, H., Rustow, B., 1997. Interaction of lipoproteins with type II pneumocytes in vitro: morphological studies, uptake kinetics and secretion rate of cholesterol. *Eur J Cell Biol* 74, 197-207
- Healthline Editorial Team. Healthline 2019. The Benefits of Vitamin E
- Kumar V., Cotran R.S., Robbins S.L. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Edisi 7. Jakarta: EGC. Hal 186-94, 200-11, 788-801.
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar*. Edisi ke-2. UI Press. Jakarta
- Mahan. 2004. Cellular Mechanisms of Vitamin E Uptake : Relevance in tocopherol Metabolism and Potential Implications for Disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. Vol 15: 252-260.
- Maulida, A., Ilyas, S., & Hutahaean, S. (2009). Pengaruh Pemberian Vitamin C dan E terhadap Gambaran Histologi Hepar Mencit (*Mus musculus L.*) yang Dipanjangkan Monosodium Glutamat (MSG). Universitas Sumatera Utara, 7–12.
- Munaf, S., 2008. *Kumpulan Kuliah Farmakologi*. Palembang: EGC.
- Muntiha, M. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E). Dalam seminar Temu Teknis Fungsional Non Peneliti. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.
- Ndaong, N.A 2013. ‘Efek Pemaparan Deltamethrin pada Broiler Terhadap Aktivitas Enzim Alanine Amino Transferase, Aspartat Aminotransferase, Gambaran Histopatologi Hepar dan Feef Conversion Ratio’, Tesis, MSc, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Pramono, S. 2012. Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu Terhadap Gambaran Histopatologis Hepar Tikus Wistar. Skripsi. Hal.14-16.
- Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 14/Permentan/Pk.350/5/2017 Tentang Klasifikasi Obat Hewan..
- Rabiah, E. S., Berata, I. K., & Samsuri. 2015. Gambaran Histopatologi

Ginjal Tikus Putih yang Diberi Deksametason dan Vitamin E. Indonesia Medicus Veterinus PISSN : 2301-7848;EISSN : 2477-6637, 4(3), 257–266.

Sareharto, Tun Paksi. 2010. Kadar Vitamin E Rendah Sebagai Faktor Risiko Peningkatan Bilirubin Serum Pada Neonatus . TESIS. Program Pasca Sarjana. Magister Ilmu Biomedik Dan Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kesehatan Anak Universitas Diponegoro. Semarang.

Suhita, Ni Luh P. R., I Wayan S., dan Ida Bagus O. W. 2013. Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. Buletin Veteriner Udayana.; 5: 2: 71-78.

Traber M.G dan Kayden H.J. 2007. Vitamin E is Delivered to Cells the High Affinity Reseptor for Low Density Lipoprotein. Am J Clin Nutr, 40: 747- 754.

Wardlaw, G.M & Hampl, Jeffrey S. 2007. Perspectives in Nutrition. Seventh Edition. Mc Graw Hill Companies Inc, New York

Winarsi H, 2007. Antioksidan alami dan radikal bebas potensi dan aplikasinya dalam kesehatan. Yogyakarta. Kanisius.

Zachary, James F.; McGavin, M. Donald . 2012. Pathologic Basis of Veterinary Disease, Fifth Edition . Missouri: Elsevier, Inc.