

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Ashitaba Terhadap Histopatologi Lambung Mencit Jantan

(THE EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF ASHITABA LEAVES TOWARD THE GASTRIC HISTOPATHOLOGY OF MALE MICE)

**I Putu Adi Wiralaga¹, I Wayan Sudira², I Made Kardena³,
Anak Agung Gde Oka Dharmayudha⁴**

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

²Lab. Farmakologi Veteriner Universitas Udayana, ³Lab. Patologi Veteriner Universitas Udayana, ⁴Bagian Klinik Veteriner Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman Denpasar-Bali

Email: zorgeaa@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap histopatologi lambung mencit. Setelah diadaptasi selama satu minggu, mencit (*Mus musculus*) jantan yang berjumlah 25 ekor dibagi secara acak menjadi lima perlakuan. Perlakuan pertama tanpa ekstrak etanol daun Ashitaba atau kontrol. Perlakuan kedua sampai keempat diberikan masing-masing dosis 125; 250; 500; dan 1.000 mg/kg bb dalam waktu 21 hari secara oral. Nekropsi organ lambung dilakukan pada hari ke 22. Hasil dari pemberian ekstrak etanol daun Ashitaba dosis 125 mg/kg bb, tiga ekor mencit mengalami degenerasi dan infiltrasi sel radang dan satu mencit mengalami nekrosis. Pemberian dosis 250 mg/kg bb, tiga ekor mencit mengalami degenerasi dan dua ekor mengalami infiltrasi sel radang dan nekrosis. Pemberian dosis 500 mg/kg bb, tiga ekor mencit mengalami degenerasi, infiltrasi sel radang dan nekrosis. Pemberian dosis 1000 mg/kg bb, tiga ekor mencit mengalami degenerasi dan nekrosis, dan empat ekor mengalami infiltrasi sel radang. Disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Ashitaba dosis 125 mg/kg bb sampai 1.000 mg/kg bb selama 21 hari tidak menimbulkan gangguan struktur histopatologi organ lambung mencit (*Mus musculus*) jantan.

Kata kunci: ashitaba, lambung, mencit

ABSTRACT

This study was intended to find out the effect of ethanol extract of Ashitaba leaves (*Angelica keiskei*) toward the gastric histopathology of male mice. After being adapted for one week, 25 male mice (*Mus musculus*) were divided randomly to be five treatments. The first treatment was not given ethanol extract of Ashitaba leaves as control. The second till fourth treatment was given each dose of 125; 250; 500; dan 1,000 mg/kg bb during 21 days orally. Necropsy for gastric organ harvesting was conducted on the day of 22. The result of giving ethanol extract of Ashitaba leaves (*Angelica keiskei*) with a dose of 125 mg/kg bb showed that three mice undergo degeneration and infiltration of inflammatory cells and one mice undergo necrosis. The dosing of 250 mg/kg bb showed that three mice undergo degeneration and two mice undergo infiltration of inflammatory cells and necrosis as well. The dosing of 500 mg/kg bb showed that three mice undergo degeneration, infiltration of inflammatory cells, and necrosis. The dosing of 1,000 mg/kg bb showed that three mice undergo degeneration and necrosis, and four mice undergo infiltration of inflammatory cells. Based on the results of the study, It was concluded that the ethanol extract of leaves Ashitaba dose of 125 mg / kg bw up to 1,000 mg / kg bw for 21 days did not cause structural disorders of the stomach organ histopathology of mice (*Mus musculus*) male.

Keywords: ashitaba, gastric, mice

PENDAHULUAN

Pada dasarnya banyak sekali jenis tumbuhan di alam yang dapat dimanfaatkan atau telah dimanfaatkan oleh masyarakat, baik sebagai bahan makanan maupun sebagai bahan obat-obatan, salah satunya adalah tanaman Seledri Jepang atau yang lebih dikenal dengan sebutan Ashitaba (*Angelica keiskei*) yang berarti daun hari esok. Tanaman ini kaya akan betakaroten, vitamin B1, B2, B3, B5, B6, B12, biotin, asam folik dan vitamin C, dan juga mengandung beberapa mineral seperti kalsium, magnesium, potasium, fosfor, seng dan tembaga (Baba *et al.*, 2009).

Dalam batang tanaman Ashitaba terdapat getah berwarna kuning yang disebut “*chalcones*” yang mengandung xanthoangelol dan 4-hydroxyderricin yang termasuk dalam senyawa flavonoid (Kozawa *et al.*, 1978). Senyawa *chalcones* ini mampu memulihkan fungsi tubuh dan mencegah timbulnya penyakit kanker, sebagai bahan diuretik dan laksatif, serta dapat memperbaiki proses metabolisme tubuh sebagai antibakteri (Inamori *et al.*, 1991).

Kata *chalcones* untuk senyawa organik dari metabolit sekunder ini diberikan oleh guru besar kimia organik dari Polandia dan seorang rekannya, yakni Stanislaw Kostanecki dan Tambor. *Chalcones* merupakan bahan utama bagi pembentukan flavonoid yang bermanfaat bagi tumbuhan untuk pertahanan diri dari serangan patogen dan tekanan lingkungan yang berlebihan. *Chalcones* merupakan salah satu kelompok flavonoid yang penyebarannya di alam sangat terbatas dan hanya ditemukan pada beberapa golongan tumbuhan dalam jumlah yang sedikit. *Chalcones* mempunyai aktivitas biologis sangat luas yang seluruhnya bermanfaat bagi kesehatan manusia dan bersifat toksisitas rendah (Akihisa *et al.*, 2006).

Flavonoid berguna sebagai

antioksidan, antimikroba, antivirus, antiplatelet (Harborne dan Williams, 2000), antibakteri, anti-inflamasi, antialergi, antikanker (Middleton dan Kandaswami, 1993) dan lain-lain. Disisi lain dilaporkan pula bahwa flavonoid dapat menyebabkan kerusakan DNA dan apoptosis (Leung *et al.*, 2005; Heidi *et al.*, 2010).

Menurut Manish dan Saurabh, (2013) secara farmakokinetik, obat yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami absorpsi, distribusi, dan pengikatan pada reseptor hingga menimbulkan efek. Kemudian dengan atau tanpa biotransformasi, obat akan diekskresi dari tubuh. Kegagalan atau kehilangan obat selama proses absorpsi akan mempengaruhi efek obat dan menyebabkan kegagalan pengobatan. Cara pemberian obat yang paling umum adalah per oral karena mudah, aman, dan murah. Pada pemberian secara oral, sebelum obat masuk peredaran darah dan didistribusikan ke seluruh tubuh, terlebih dahulu harus mengalami proses absorpsi pada saluran cerna seperti halnya pada lambung.

Lambung terletak di bagian atas abdomen, terbentang dari permukaan bawah *arcus costalis sinistra* sampai *regio epigastrican umbilicalis*. Lambung berbentuk huruf J dan mempunyai dua lubang yaitu ostium cardiacum dan ostium pyloricum; dua curvature yaitu *curvatura mayor* dan *curvatura minor*; dan dua dinding yaitu *paries anterior* dan *paries posterior* (Lauwers, 2004).

Ashitaba (*Angelica keiskei*) mengandung berbagai senyawa kimia dengan sifat yang berbeda-beda. Ada kemungkinan, senyawa tersebut berinteraksi secara berbeda-beda di dalam tubuh. Sisa-sisa metabolismenya, maupun kandungan senyawa lain yang belum diketahui bentuk dan sifatnya, dapat mempengaruhi struktur histologi dan fungsi lambung. Kerusakan lambung yang diakibatkan oleh infeksi agen asing atau iritasi kimiawi ini, diawali dengan kongesti dan fokus hemorrhagi pada

mukosa lambung. Kerusakan tersebut kemudian akan segera diikuti dengan perubahan pada epithelium, hemorrhagi, edema dan erosi permukaan epithel (Roxana *et al.*, 1995).

METODE PENELITIAN

Materi penelitian

Sebanyak 25 ekor mencit jantan dibagi menjadi lima kelompok yang setiap kelompoknya terdapat lima ekor mencit. Mencit (*Mus musculus*) jantan yang dipilih berumur 3-4 bulan yang memiliki berat rata-rata mencapai 25 gram. Mencit diletakkan dalam kandang plastik yang diberi alas sekam dan ditutup dengan kawat. Pakan yang diberikan berupa pellet dan diberi air minum secara berkecukupan. Sonde diperlukan pada saat memasukkan ekstrak pada lambung mencit. Perlakuan ini dilakukan selama 21 hari. Pada hari ke 22 dilakukan nekropsi dan dilakukan pengambilan organ lambung untuk dibuat preparat histopatologi.

Daun Ashitaba yang akan digunakan sebelumnya ditimbang terlebih dahulu dan diblender hingga halus sampai berbentuk serbuk. Kemudian serbuk yang dihasilkan, dikeringkan selama satu minggu. Proses pengeringannya dengan cara diletakkan di tempat terbuka dengan sirkulasi udara yang baik dan tidak terkena sinar matahari langsung. Apabila pada proses pengeringan dilakukan dengan suhu yang terlalu tinggi atau dengan terkena sinar matahari secara langsung, ini akan dapat merusak komponen aktif yang ada di dalamnya. Setelah dikeringkan dan telah berbentuk serbuk kemudian direndam dengan etanol 96% dengan volume dua kali lipat dari volume serbuk Ashitaba selama satu hari, kemudian dilakukan penyaringan untuk mendapatkan cairan dari hasil perendaman. Hasil penyaringan diuapkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak Ashitaba. Ekstrak

yang telah didapat selanjutnya disimpan pada suhu -20°C sebelum digunakan.

Pembuatan preparat histopatologi

Perlakuan pada setiap kelompok dilakukan selama 21 hari. Pada hari ke 22 semua mencit dinekropsi, kemudian lambung diambil untuk selanjutnya dibuat preparat histopatologi. Pembuatan preparat histopatologi dibuat sesuai dengan metode Kiernan (2001) dan pewarnaan dengan metode *Hematoxylin Eosin* (HE).

Pemeriksaan preparat histopatologi

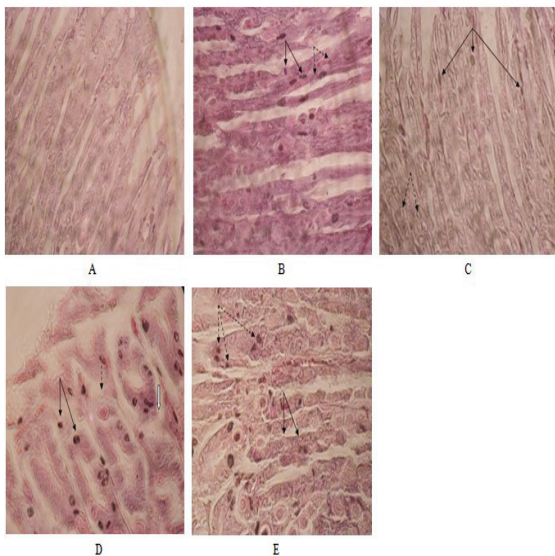
Preparat histopatologi diperiksa di bawah mikroskop masing-masing pada 5 lapang pandang mikroskopik. Perubahan yang diamati seperti adanya infiltrasi sel radang, degenerasi melemak, dan nekrosis. Perubahan pada lambung yang diamati kemudian diskoring. Skoring untuk infiltrasi sel radang: 0= sel radang tidak ada; 1=sel radang ringan (fokal); 2= sel radang sedang (multifokal); 3= sel radang parah (difusa). Skoring untuk degenerasi: 0=degenerasi tidak ada; 1= degenerasi ringan (fokal); 2= degenerasi sedang (multifokal); 3= degenerasi parah (difusa). Skoring untuk nekrosis: 0= nekrosis tidak ada; 1= nekrosis ringan (fokal); 2= nekrosis sedang (multifokal); 3= nekrosis parah (difusa).

Analisis Data

Data hasil pemeriksaan ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif dengan statistik non parametrik Kruskal Wallis menggunakan program statistik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan histopatologi pada lambung mencit yang tidak diberikan ekstrak etanol daun Ashitaba, tidak ditemukan adanya infiltrasi sel-sel radang, nekrosis dan degenerasi (melemak atau hidrofik).



Gambar 1. Histopatologi lambung mencit sesuai kelompok perlakuan.

Pada kelompok kontrol lambung tampak normal, sedangkan pada kelompok B, C, D, E tampak adanya degenerasi, infiltrasi sel radang, dan nekrosis. Pada lambung mencit jantan kelompok yang diberi perlakuan ekstrak etanol daun Ashitaba (kelompok B, C, D dan E) beberapa sampel diantaranya mengalami infiltrasi sel-sel radang, degenerasi (melemak atau hidrofik), dan nekrosis ringan (fokal) seperti terlihat pada Gambar 1. Data hasil pemeriksaan histopatologi lambung mencit percobaan tampak seperti tercantum dalam Tabel 1.

Hasil analisis statistik non parametrik Kruskal-Wallis menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Ashitaba tidak berpengaruh nyata terhadap adanya degenerasi ($p=0,236$), infiltrasi sel radang ($p=0,132$), dan nekrosis ($p=0,208$) ($p > 0,05$).

Ashitaba mengandung senyawa kimia berupa flavonoid. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol yang memiliki fungsi sebagai antioksidan, sehingga mampu mencegah sekaligus mengatasi serangan kanker. Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan. Mekanisme kerja flavonoid

dalam mengatasi kanker dengan cara mengaktifkan enzim-enzim yang ada pada lambung untuk menghilangkan senyawa mutagen dan karsinogen. Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan yaitu pada daun, akar, kayu, kulit, buah, dan biji (Atchariya *et al.*, 2014).

Secara farmakokinetik, banyak bahan yang berpotensi toksik dapat masuk ke dalam tubuh melalui lambung. Sebagaimana diketahui, secara histologi lambung terdiri atas empat lapisan, salah satunya lapisan mukosa yang merupakan lapisan barrier antara tubuh dengan berbagai bahan, termasuk makanan, toksin dan mikroorganisme yang masuk melalui saluran pencernaan (Naguib *et al.*, 2011). Salah satu komponen pertahanan mukosa lambung adalah sel goblet yang mensekresikan mukus. Mukus mempunyai kemampuan mempermudah meluncurnya makanan di sepanjang saluran pencernaan dan mencegah eksorasi atau kerusakan kimiawi epitel. Sekresi mukus juga dapat melindungi mukosa lambung dari agen asing, seperti mikroorganisme, cacing, bahan yang bersifat asam dan lain-lain (Tomy, 2014).

Dengan mekanisme enzimatik dan seleksi dalam sistem pencernaan, pemberian ekstrak etanol daun Ashitaba tidak sampai menimbulkan keracunan di lambung.

Pada gambaran histopatologi lambung mencit (*Mus musculus*). Tiga ekor sampel pada masing-masing pemberian dosis 125 mg/kg bb (0,03 ml), 250 mg/kg bb (0,06 ml), 500 mg/kg bb (0,12 ml) dan 1.000 mg/kg bb (0,24 ml) mengalami degenerasi.

Degenerasi melemak (*fatty degeneration*) biasanya ditandai dengan adanya vakuola yang besarnya bervariasi dan pada kasus berat mendesak nukleus ke tepi. Lemak dalam sitoplasma sel dapat mendesak inti sel ke pinggir yang tampak pada pemeriksaan mikroskopis.

Tabel 1. Data hasil pemeriksaan perubahan histopatologi (Dalam Skoring)

Perlakuan	Ulangan	Degenerasi	Sel radang	Nekrosis
A (kontrol)	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	4	0	0	0
	5	0	0	0
B 125 mg/kg bb	1	1	1	0
	2	1	1	0
	3	0	0	1
	4	0	1	0
	5	1	0	0
C 250 mg/kg bb	1	1	1	0
	2	0	1	0
	3	1	0	1
	4	0	0	1
	5	1	0	0
D 500 mg/kg bb	1	1	1	1
	2	1	1	1
	3	0	0	1
	4	1	0	0
	5	0	1	0
E 1000 mg/kg bb	1	1	1	1
	2	1	0	2
	3	0	1	1
	4	0	1	0
	5	1	1	0

Akan tetapi, sel-sel yang mengalami degenerasi hidrofik biasanya ditandai dengan pembesaran sitoplasma yang dapat disertai dengan adanya ruang-ruang kosong (vakuola) dengan inti sel tetap ditengah. Adanya pembesaran pada sel menyebabkan sel terlihat rapat. Degenerasi hidrofik biasanya banyak terjadi pada sel-sel epitel. Penyebabnya antara lain akibat diet atau zat toksik sehingga tidak terbentuk lipoprotein (Malik, 1992). Degenerasi dapat terjadi secara fisiologis tergantung dari pakan dan aktivitas metabolik lambung. Dari berbagai penyebab, adanya toksin yang masuk ke dalam tubuh mencit dalam jumlah yang besar, merupakan penyebab utama terjadinya degenerasi organ (Park *et al.*, 2015).

Ditinjau dari pengamatan

histopatologi, pemberian ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) pada semua kelompok teramati mengalami infiltrasi sel radang. Tiga ekor sampel pada pemberian dosis 125 mg/kg bb (0,03 ml) dan 500 mg/kg bb (0,12 ml) ditemukan adanya infiltrasi sel radang. Dua ekor sampel pada pemberian dosis 250 mg/kg bb (0,06 ml) mengalami infiltrasi sel radang. Pada dosis pemberian 1.000 mg/kg bb (0,24 ml), empat dari lima ekor sampel lambung mencit ditemukan adanya infiltrasi sel radang. Infiltrasi sel-sel radang dapat terjadi apabila kerusakan sel pada fundus dan pylorus merangsang pelepasan mediator inflamasi. Rangkaian tugas mediator inflamasi diawali dengan peradangan akut dan diakhiri dengan penyembuhan. Proses peradangan akut

disertai dengan dilatasi pembuluh darah, peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan pembentukan edema radang. Peningkatan permeabilitas pembuluh darah akan menyebabkan protein, eritrosit dan leukosit keluar dari pembuluh darah dan masuk ke jaringan. Fungsi leukosit dan sel radang lainnya adalah untuk memfagosit dan mendegradasi agen yang menyerang seperti bakteri dan mikroba lain. Inflamasi atau reaksi peradangan merupakan mekanisme penting yang diperlukan tubuh untuk mempertahankan diri dari berbagai bahaya dan juga memperbaiki struktur serta gangguan fungsi jaringan yang ditimbulkan oleh bahaya tersebut (Roxana *et al.*, 2012).

Nekrosis merupakan proses kematian sel atau kematian kelompok sel yang masih merupakan bagian dari organisme hidup dengan penyebab yang bervariasi. Nekrosis dapat terjadi akibat bahan beracun, aktivitas mikroorganisme, defisiensi pakan, dan kadang-kadang gangguan metabolisme. Nekrosis ditandai dengan bengkaknya sel karena upaya membran plasma mengatur lesio mekanisme keluar masuknya ion dan air. Nekrosis melibatkan sekelompok besar sel dalam jaringan dan menghasilkan molekul-molekul pra peradangan sehingga akan diinfiltrasi oleh sel-sel radang. Sitoplasma dari sel nekrosis akan terlihat lebih asidofilik (merah) yang disebabkan denaturasi protein sitoplasma dan kerusakan lisosom. Khromatin inti menggumpal, inti mengecil dan berwarna biru yang dikenal dengan proses piknosis (Javad, 2007; Tommy, 2014). Inti piknosis dapat pecah menjadi bagian-bagian kecil (karyohexis) atau menghilang (karyolisis). Nekrosis dapat disebabkan oleh bermacam-macam agen etiologi dan dapat menyebabkan kematian dalam beberapa hari. Agen penyebabnya yaitu racun kuat (seperti fosfor, jamur beracun, dan lainnya), gangguan metabolik (biasanya pada

metabolisme protein), infeksi virus yang menyebabkan bentuk fluminan atau maligna virus (Atchariya *et al.*, 2014).

Hasil penelitian dan pengamatan histopatologi lambung mencit setelah pemberian ekstrak etanol daun Ashitaba selama 21 hari memperlihatkan adanya nekrosis pada dosis yang diberikan tapi dengan derajat ringan. Satu ekor mencit mengalami nekrosis ringan setelah diberikan dosis 125 mg/kg bb (0,03 ml). Dua ekor mencit mengalami nekrosis ringan setelah diberikan dosis 250 mg/kg bb (0,06 ml). Tiga ekor mencit mengalami nekrosis ringan setelah diberikan dosis 500 mg/kg bb (0,12 ml). Dua ekor mencit mengalami nekrosis ringan dan salah satu dari mencit tersebut mengalami nekrosis sedang setelah diberikan dosis 1.000 mg/kg bb (0,24 ml). Meskipun salah satu sampel mengalami nekrosis sedang, namun secara umum pemberian ekstrak etanol daun Ashitaba ini masih cukup aman bagi lambung mencit (*Mus musculus*) jantan (Roxana *et al.*, 2012).

Menurut Malik (1992), mukosa lambung merupakan barrier antara tubuh dengan berbagai bahan, termasuk makanan, produk-produk pencernaan, toksin, obat-obatan, mikroorganisme yang masuk melewati saluran pencernaan dan bahan-bahan yang berasal dari luar tubuh maupun produk-produk pencernaan berupa asam dan enzim proteolitik yang dapat merusak jaringan mukosa lambung (Ahmed *et al.*, 2009). Oleh karena itu, lambung memiliki sistem protektif yang berlapis-lapis dan sangat efektif untuk mempertahankan keutuhan mukosa lambung. Adanya kerusakan pada mukosa lambung dapat diperbaiki dengan mempercepat penggantian sel-sel yang rusak. Sel-sel epitel saluran pencernaan terus-menerus mengalami pergantian dan regenerasi setiap 1-3 hari. Selain itu, pada selaput lendir saluran pencernaan juga terdapat komponen protektif mukosa yaitu

prostaglandin. Prostaglandin meningkatkan resistensi selaput lendir terhadap iritasi mekanis, osmotis, termis atau kimiawi dengan cara regulasi sekresi asam lambung, sekresi mukus, bikarbonat, dan aliran darah mukosa (Ahmed *et al.*, 2009; Naguib *et al.*, 2011). Dengan sistem mekanisme enzimatik dan seleksi dalam sistem pencernaan, ekstrak dari tanaman Ashitaba tidak sampai menimbulkan kerusakan atau perubahan struktur yang berat pada sel epitel dan kelenjar lambung mencit jantan (Atchariya *et al.*, 2014).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pemberian ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) dengan rentang pemberian dosis 125 mg/kg bb sampai dengan dosis 1000 mg/kg bb selama 21 hari tidak berpengaruh terhadap struktur gambaran histopatologi lambung mencit (*Mus musculus*) jantan.

Saran

Perlu adanya penelitian sejenis untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak etanol daun Ashitaba terhadap perubahan struktur histopatologi lambung pada mencit dengan durasi yang lebih lama dan dosis pemberian yang lebih tinggi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas atas kesempatan dan fasilitas penelitian. Kepala Laboratorium Analitik dan Biomarine Program Kimia Terapan Pascasarjana Universitas Udayana sebagai tempat dilakukannya pembuatan ekstrak etanol daun ashitaba. Terima Kasih juga disampaikan pada Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana yang membantu dalam pembuatan

preparat histopatologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed YA, Hafez EF, Zayed AAE. 2009. Histological and histochemical studies on the esophagus, stomach and small intestines of varanus niloticus. *J Vet Anat*, 2(1): 35-48.
- Akihisa T, Tokuda H, Hasegawa D, Ukiya M, Kimura Y, Enjo F, Zuzuki T, Nishino H. 2006. Chalcones and other compounds from the exudates of *Angelica keiskei* and their cancer chemopreventive effects. *J Nat Prod*, 69(1): 38-42.
- Atchariya S, Machalin D, Akkarawit IWP, Naraid S. 2014. Pathological manifestations and immune responses of serotypes Ia and III *Streptococcus agalactiae* infections in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Songklanakarinn J. Sci Technol*, 36(5): 499-506.
- Baba K, Taniguchi M, Shibano M, Minami H. 2009. The components and line breeding of *angelica keiskei* koidzumi. *J Bunseki Kagaku*, 58(12).
- Harborne JB, Williams CA. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *J Phytochem*, 55: 481-504.
- Heidi MM, Minji S, Abeer A, Patrick PD. 2010. Materials for pharmaceutical dosage forms: molecular pharmaceutics and controlled release drug delivery aspects. *Int J Mol Sci*, 11: 3298-3322.
- Inamori Y, Baba K, Tsujibo H, Taniguchi M, Nakata K, Kozawa M. 1991. Antibacterial activity of two chalcones, xanthoangelol and 4-hydroxyderricin, isolated from the root of *angelica keiskei* koidzumi. *Chem Pharm Bul*, 39(6): 1604-1605.
- Javad A. 2007. Anatomical and histological studies of accessory

- adrenal nodules in caspian miniature horses. *Turk J Vet Anim Sci*, 31(4): 275-278.
- Ji-Won Y, Hee-Sook J. 2005. Autoimmune destruction of pancreatic b cells. *Am J Therapeutics*, 12: 580-591.
- Kiernan JA. 2001. *Histological and Histochemical Methods*. 3rd Ed. Toronto. Arnold Pub. Pp. 330-35.
- Kozawa M, Morita N, Baba K, Hata K. 1978. *Chemical components of roots Angelica koidzumi*. 3rd Ed. The structure of a new dihydrofuro-coumarin, Yakugaku Zasshi.
- Lauwers GY. 2004. Epithelial neoplasms of the stomach. In: *Surgical Pathology of The GI Tract, Liver, Biliary Tract, and Pancreas*. Saunders. Elsevier. Vol. 1. 409-27.
- Leung HW, Wu C, Lin C, Lee H. 2005. Luteolin induced DNA damage leading to human lung squamous carcinoma CH27 cell apoptosis. *European J of Pharmacology*, 508: 77-83.
- Malik A. 1992. Mekanisme proteksi mukosa saluran cerna. *Cermin Dunia Kedokteran*, 79: 5-8.
- Manish J, Saurabh R. 2013. A review on immediate release drug delivery system. *Res J Pharm Biol Chem Sci*, 4(2): 17-21.
- Middleton EJ, Kandaswami C. 1993. *The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications of immunity, inflammation and cancer*. In: Harborne, J.B. (editor). *The Flavonoids: Advances in research since 1986*. London: Chapman and Hall.
- Naguib SA, EI-Shabaka HA, Ashour F. 2011. Comparative histological and ultrastructural studies on the stomach of schilbe mystus and the intestinal swelling of labeo niloticus. *J Am Sci*, 7(8).
- Park JY, Lumbera WML, Dela Cruz JF, Jeong SE, Hwang SG. 2015. The hot water extract of angelica gigas nakai root promotes adipogenic differentiation via activation of the insulin signaling pathway in 3T3-L1 cells. *J Phys Pharm*, 5(11): 795-802.
- Roxana P, Marioara N F, Gabi D, Liliana PC, Victor D, Daliborca V, Doina V. 2012. Histological and morphometrical studies in liver regeneration in mice. *Anim Sci Biotechnol*, 45(2).
- Tommy B. 2014. Who is responsible for prescribing exercise medicine. *J Professional Exercise Physiology*, 12(2).