

Konsumsi Urin Sapi Bali terhadap Kadar ALT dan AST serta Gambaran Histopatologi Hati Tikus

Mahyuzar¹, I Nyoman Suarsana², I Made Kardena¹

¹Lab Histologi, ²Lab Biokimia,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
Jl.P.B.Sudirman Denpasar Bali tlp. 0361-223791
Email :mahyuzar@rocketmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek dari konsumsi atau urinotherapy urin sapi bali terhadap tingkat kadar ALT dan AST serta gambaran histopatologi hati tikus. Senyawa yang terkandung dalam urin sapi bali di analisis dengan menggunakan Kromatografi Gas Spektrometri Massa (GCMS). Hasil kromatografi gas menunjukkan bahwa sapi bali analisis urin yang mengandung fenol, asam asetat, asam isosianat, asam propenoat, octacosane, dan senyawa nitrogen oksida. Hasil analisis kadar ALT dan AST plasma pada tikus yang diberi urin sapi bali, dimana kadar ALT dalam semua kelompok perlakuan tikus juga berbeda nyata ($P>0,05$) masing-masing dengan nilai $134,40 \pm 5,32$ IU/l, $132,40 \pm 8,08$ IU/l, $121,40 \pm 6,43$ IU/l, dan $139,60 \pm 7,63$ IU/l, sedangkan nilai kadar AST $155,60 \pm 8,44$ IU/l, $132,80 \pm 7,85$ IU/l, $135,80 \pm 9,73$ IU/l, dan $223,80 \pm 25,25$ IU/l.

Hasil pemeriksaan histopatologi sel hati menunjukkan bahwa kelompok kontrol (K1), K2 dan K3 tampak sel hati tidak mengalami perubahan. Sedangkan pada kelompok K4 tampak sel hati telah mengalami degenerasi. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian urin sapi bali berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap kadar ALT dan AST plasma pada tikus. Pemberian urin sapi bali dosis 2 cc/ekor/hari menyebabkan kadar ALT dan AST lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya dan secara histopatologi terlihat sel hati mengalami nekrosis.

Kata kunci: Urin sapi, Kromatografi Gas Massa, Gambaran Histopatologi Hati Tikus, ALT dan AST.

PENDAHULUAN

Urin atau air seni atau air kencing adalah cairan sisa yang diekskresikan oleh ginjal yang kemudian akan dikeluarkan dari dalam tubuh melalui proses urinasi. Eksresi urin diperlukan untuk membuang molekul-molekul sisa dalam darah yang disaring oleh ginjal dan untuk menjaga homeostasis cairan tubuh. Urin disaring di dalam ginjal, dibawa melalui ureter menuju kandung kemih, akhirnya dibuang keluar tubuh melalui uretra (Guyton, 1996).

Penggunaan urin dalam ransum pakan ternyata dapat meningkatkan daya cerna sehingga zat-zat pakan lebih banyak diserap oleh tubuh, untuk pertumbuhan atau produksi. Keberadaan urin dalam ransum dapat meningkatkan aktivitas enzimatis dan meningkatkan aktivitas pencernaan, mengurangi gangguan pencernaan, dengan demikian ternak merasa lebih nyaman, sehingga dapat meningkatkan penyerapan nutrisi oleh tubuh dan dapat meningkatkan penambahan berat badan serta meningkatkan hasil produksi menjadi lebih optimal (Kumar, 2009).

Hati merupakan organ terbesar dalam tubuh dan melakukan fungsi penting yang sangat kompleks dalam tubuh. Ada empat fungsi hati yaitu pembentukan dan sekresi empedu, metabolisme zat-zat penting bagi tubuh, berperan dalam pertahanan tubuh baik berupa detoksifikasi maupun fungsi perlindungan, serta fungsi vaskuler (Dalimartha, 2001). Fungsi hati antara lain sebagai tempat berlangsungnya metabolisme lemak, detoksikasi toksin, kuman, hormon, dan obat yang terserap dalam usus (Ressang, 1984).

Oleh karena itu patofisiologi hati sangat berkaitan dengan makanan dan minuman yang dikonsumsi. Mengonsumsi urin perlu dikaji terhadap efeknya pada fungsi hati. Adanya kerusakan sel-sel parenkim hati atau permeabilitas membran akan mengakibatkan enzim AST (Aspartat Aminotransferase) dan ALT (Alanin Aminotransferase), arginase, laktat dehidrogenase dan gamma glutamil transminase bebas keluar sel, sehingga enzim masuk ke pembuluh darah melebihi keadaan normal dan kadarnya dalam darah meningkat (Girindra, 1986). Namun demikian, indikator yang lebih baik untuk mendeteksi kerusakan jaringan hati adalah AST dan ALT, karena kedua enzim tersebut akan meningkat terlebih dahulu dan peningkatannya lebih dratis bila dibandingkan dengan enzim- enzim lainnya (Amin, 1995; Calbreath, 1992). Oleh karena itu melalui hasil tes laboratium dan gambaran histopatologi dapat digunakan untuk mengetahui kelainan pada fungsi hati.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsumsi urin sapi terhadap kadar ALT dan AST serta gambaran histopatologi hati tikus percobaan.

METODE PENELITIAN

Sebanyak 20 ekor tikus putih galur *sprague dawley* dewasa jantan dengan umur 2 bulan dengan berat badan rata-rata 200 gram, urin sapi dari sapi bali jantan yang diambil langsung dari kantong kemih di rumah potong hewan (RPH) pesanggaran Denpasar, pakan tikus berupa pakan ayam komersial produksi PT. Charoen Phokphand (ABS), KIT pemeriksaan ALT dan AST, bahan-bahan untuk pembuatan sediaan histologi, seperti larutan formalin buffer 10%, alkohol 95%, alkohol 90%, alkohol 80%, alkohol 70%, xylol, parafin, gliserin, dan zat warna Hematoksilin Eosin.

Urin yang digunakan adalah urin sapi bali jantan, yang diambil langsung dari kantong kemih di rumah potong hewan (RPH) pesanggaran Denpasar. Urin yang dikoleksi ditempatkan dalam tabung bersih. pH urin sapi bali diukur, kemudian dibagi menjadi 30 botol kecil volume 18 cc dan ditempatkan di freezer. Setiap hari diambil satu botol untuk diaplikasikan ke hewan percobaan.

Urin sapi bali dianalisis dengan Kromatografi Gas Spektometri Massa (GCMS) dengan sistem MS: perangkat ion (varian saturnus kolom empat faktor VF-17 mas 30 m x 0,25 mm, IDDF = 0,5). Suhu oven berada di 100-300°C. Suhu *injector* 275⁰C, volume injeksi 7 µl, split rasio 1:30, gas pembawa Helium dengan mengikuti laju 1,3 cc/ mn konstan.

Hewan yang digunakan adalah tikus jantan galur *Sprague dawley* umur 2 bulan dengan berat rata-rata ± 200 gr. Tahap persiapan tikus percobaan meliputi masa adaptasi selama 1 minggu dengan pemberian ransum komersial dan air minum *adlibitum*. Sebanyak 20 ekor, tikus percobaan dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, tiap perlakuan terdiri dari 5 ekor hewan coba. Satu kelompok sebagai kontrol negatif (K1) diberi aquades dan 3 kelompok lainnya (K2, K3 dan K4) adalah kelompok tikus normal dan diberi urin sapi bali dosis yang berbeda-beda, yaitu 0,5 cc/ekor/hari, 1 cc/ekor/hari dan 2 cc/ekor/hari per oral. Perlakuan diberikan selama 30 hari. Pada akhir penelitian, semua tikus percobaan di euthanasia, kemudian darah diambil melalui jantung dan dimasukkan ke dalam tabung vacutainer yang telah berisi EDTA untuk mendapatkan

plasma. Kemudian setelah tikus mati, tikus dibedah dan diambil organ hati untuk pemeriksaan histopatologi.

Pengukuran aktivitas ALT dan AST pada semua perlakuan dilakukan pada akhir perlakuan. Darah diambil melalui jantung dan ditampung dalam tabung vacutainer yang telah berisi EDTA dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit selanjutnya disentrifius dengan kecepatan 5000 selama 20 menit dan plasma dipisahkan. Kadar ALT dan AST ditentukan dengan metode spektrofotometri menggunakan reagen KIT Humazym-UV test (Cat-No. 10001 dan 10002).

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis sidik ragam (ANOVA). Jika perlakuan memberikan pengaruh yang nyata, maka pengujian dilanjutkan dengan uji beda Duncan pada taraf 5% (Steel dan Torrie, 1993) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, sedangkan perubahan histopatologi pada hati dianalisis secara deskriptif.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia, Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Bali, dan UPTD Laboratorium Kesehatan Propinsi Bali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang dilakukan pada tikus percobaan yang mengkonsumsi urin sapi bali diperoleh data yaitu data GCMS dimana hasil analisis urin sapi bali menggunakan kromatografi gas massa ditunjukkan pada gambar 1,

Gambar 1. Kromotogram hasil analisis urin dengan kromatografi gas massa

Tabel 4.1 Hasil kromatografi gas massa urin sapi bali

Senyawa	Waktu retensi
Nitrogen oksida (N ₂ O)	3,959 menit
Asam isosianat	4,468 menit
Asam asetat	5,615 menit
Fenol	18,225 menit
Asam propenoat	35,746 menit
Octacosane	41,637 menit

Hasil analisis urin sapi bali menggunakan kromatografi gas massa (Gambar 1 dan Tabel 4.1), urin sapi tersebut mengandung nitrogen oksida (N_2O) (tingkat waktu 3,959 mn), asam isosianat (tingkat waktu 4,468 mn), asam asetat (tingkat waktu 5,615 mn), fenol (tingkat waktu 18,225 mn), asam propenoat (tingkat waktu 35,746 mn), dan octacosane (tingkat waktu 41,637 mn). Senyawa nitrogen oksida merupakan suatu senyawa biner oksigen dan nitrogen, atau senyawa campuran, seperti nitrat oksida (NO). Senyawa tersebut hanya sekitar 10% dari seluruh emisi nitrogen oksida, yang berasal dari sumber antropogenik (WHO, 1977). Sisanya diproduksi secara alami oleh proses biologis anaerobik.

Hasil analisis rata-rata kadar ALT dan AST plasma pada tikus yang diberi urin sapi bali disajikan pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Kadar ALT dan AST plasma pada tikus percobaan dengan berbagai perlakuan

Perlakuan	Kadar ALT (IU/I)	Kadar AST (IU/I)
K1: Kontrol	134,40 ± 5,32 ^a	155,60 ± 8,44 ^b
K2: Urin sapi bali dosis 0,5 ml	132,40 ± 8,08 ^a	132,80 ± 7,85 ^a
K3: Urin sapi bali dosis 1 ml	121,40 ± 6,43 ^b	135,80 ± 9,73 ^a
K4: Urin sapi bali dosis 2 ml	139,60 ± 7,63 ^a	223,80 ± 25,25 ^c

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil uji berbeda nyata ($P < 0,05$)

Analisis dan pengujian statistik dilakukan dengan menggunakan sidik ragam, hasil pengujian statistik menunjukkan bahwa pemberian urin sapi bali berpengaruh nyata terhadap kadar ALT dan AST ($P < 0,05$).

Tabel 4.3 Uji Duncan terhadap kadar ALT plasma pada tikus percobaan

Perlakuan	N	Subset for alpha=.05	
		1	2
3	5	121.40	
2	5		132.40
1	5		134.40
4	5		139.60
Sig.		1.000	.139

Tabel 4.4 Uji Duncan terhadap kadar AST plasma pada tikus percobaan

Perlakuan	N	Subset for alpha=.05		
		1	2	3
2	5	132.80		
3	5	135.80		
1	5		155.60	
4	5			233.80
Sig.		.751	1.000	1.000

Uji lanjutan dilakukan dengan uji Duncan (Tabel 4.3 dan Tabel 4.4), bertujuan untuk melihat perlakuan kelompok kadar ALT K4 nyata lebih tinggi dari kelompok K3, namun tidak berbeda dengan kelompok K1 dan K2, sedangkan K3 nyata lebih rendah dari kelompok K1, K2 dan K4. Dan kadar AST nyata lebih tinggi dari K1, K2 dan K3, sedangkan K3 dan K2 nyata lebih rendah dari kelompok K1, namun K2 dan K3 tidak berbeda nyata.

Kerusakan hati dapat menyebabkan produk sekresinya seperti enzim ALT dan AST bebas keluar sel dan masuk ke pembuluh darah sehingga kadar ALT dan AST dalam darah menjadi meningkat bahkan melebihi batas normal. Pada keadaan kronis, aktivitas enzim ALT dan AST dalam darah dapat mengalami peningkatan sebanyak 1-5 kali lebih tinggi bila dibandingkan dengan keadaan normal. Tabel 4.2 menunjukkan hasil analisis aktivitas enzim ALT dan AST plasma tikus selama perlakuan. Aktivitas enzim ALT pada kelompok K1 tanpa diberi perlakuan berkisar antara $134,40 \pm 5,32$ IU/l. Sedangkan aktivitas enzim AST berkisar antara $155,60 \pm 8,44$ IU/l. Berdasarkan Pillichos *et al*, (2004), nilai aktivitas enzim ALT dan AST normal pada tikus berkisar antara $135,20 \pm 5,5$ IU/l dan $160,8 \pm 19,8$ IU/l. Nilai aktivitas enzim ALT dan AST yang diperoleh ini dapat dikatakan berada pada ambang batas normal.

Sebaliknya pemberian urin sapi bali 0,5 cc/ekor/hari pada kelompok K2 menyebabkan nilai AST dan ALT lebih rendah secara nyata ($P < 0,05$) dari perlakuan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan urin sapi seperti fenol mempunyai aktivitas antioksidan. Senyawa fenol dapat melindungi sel hati dari kemungkinan pengaruh negatif senyawa toksik dan juga senyawa-senyawa radikal bebas. Senyawa antioksidan dapat menetralkan senyawa radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektron untuk mengubah radikal bebas menjadi senyawa netral atau dapat mencegah reaksi berantai dan bereaksi dengan radikal lipid dan mengubahnya

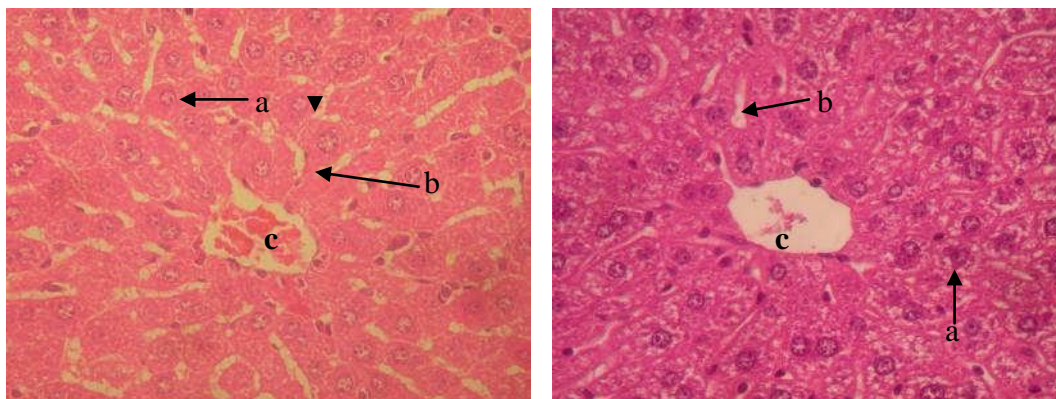
menjadi produk yang lebih stabil, sehingga kerusakan sel hati lebih lanjut dapat dicegah. Terjadinya penurunan kadar ALT dan AST pada tikus yang mendapatkan perlakuan urin sapi bali menunjukkan bahwa urin sapi dapat mencegah dan melindungi sel-sel hati dari kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas sehingga peroksidasi lipid dapat dihambat dan dicegah.

Pada kelompok K3 yang diberi urin 1 cc/ekor/hari aktivitas enzim ALT lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok K1 dan K2. Hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap mekanisme perlindungan hati yang diberikan oleh senyawa yang terkandung dalam urin sapi bali. Pengaruh signifikan terhadap mekanisme perlindungan hati ditunjukkan oleh senyawa-senyawa *volatile* dan *non volatile* yang terkandung dalam urin sapi dengan dosis 1 cc/ekor/hari. Walaupun urin sapi bali dengan dosis 0,5 cc/ekor/hari memberikan pengaruh yang nyata namun, secara statistik menunjukkan pengaruh yang tidak signifikan. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa semakin besar dosis urin sapi bali yang diberikan maka mekanisme perlindungan hati semakin tinggi.

Tabel 4.2 menunjukkan kelompok K3 hasil analisis aktivitas enzim AST selama perlakuan. Pada tabel tersebut terlihat bahwa kadar enzim AST mengalami peningkatan secara signifikan ($P < 0,05$) terhadap kelompok K2, yaitu $135,80 \pm 9,73$ IU/l dibandingkan dengan kelompok K2 sebesar $132,80 \pm 7,85$ IU/l. Disebabkan aktivitas AST peningkatannya lebih tinggi dari kelompok K2. Aktivitas AST yang fluktuatif pada kelompok normal tersebut diduga dapat disebabkan stres akibat pengambilan darah. Menurut penelitian Levent (2006), stres oksidatif dapat menurunkan kadar superoksida dismutase dan meningkatkan pembentukan radikal bebas *reactive oxygen species* (ROS) sehingga membran sel rusak dan enzim-enzim tertentu keluar dari membran sel ke darah seperti enzim AST.

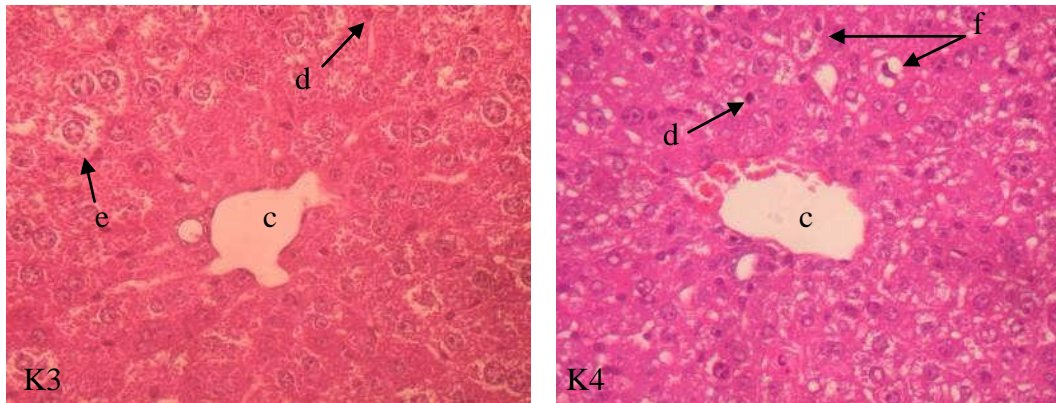
Gambaran Histopatologi Hati Tikus Percobaan

Hasil pengamatan perubahan histopatologi terhadap sel hati disajikan pada gambar 2.



K1

K2



Gambar 2. Fotomikrograf jaringan hati tikus perlakuan yang diwarnai dengan HE pembesaran 400x, K1 sebagai kontrol, K2 sampai K4 masing-masing diberi 0,5, 1 dan 2 cc urin sapi bali.

Keterangan:

- (a) sel hati (hepatosit) (b) sinusoid (c) vena sentralis (d) sel kuffer
(e) sel hati yang mengalami degenerasi (f) sel hati yang mengalami nekrosis

Hasil pemeriksaan histopatologi sel hati pada Gambar 2 menunjukkan bahwa kelompok kontrol (K1) tampak sel hati tidak mengalami perubahan maupun kelainan yang berarti. Hasil pengamatan menunjukkan sel hati memiliki inti hepatosit yang terlihat jelas, adanya sitoplasma di dalam membran sel, sel-sel hepatosit yang tersusun melingkar dari vena sentralis, sel kuffer, sinusoid dan vena sentralis yang masih dalam kondisi normal. Gambaran histopatologi hati ini menguatkan analisis aktivitas enzim ALT dan AST pada akhir perlakuan yang mencapai batas normal.

Berdasarkan analisis aktivitas enzim ALT dan AST plasma tikus, pemberian urin sapi bali menunjukkan adanya mekanisme perlindungan hati. Namun, gambaran histologi hati pada kedua dosis menunjukkan hasil yang berbeda. Pada kelompok K2 dengan dosis 0,5 cc/ekor/hari (Gambar 2) perbaikan sel hepatosit yang terjadi tidak begitu berarti. Pada perlakuan ini sel hepatosit masih normal mulai terlihat dari inti sel yang tampak jelas. Hal ini menandakan bahwa ada proses menuju regenerasi sel hati yang dibantu oleh kandungan senyawa antioksidan yang terdapat dalam urin sapi bali walaupun belum signifikan. Hal ini terlihat dari sel hepatosit yang menjadi lebih teratur dengan batas antar sel serta bentuk radial dalam lobulus sudah mulai terlihat.

Sedangkan pada kelompok K3 tampak sel hati telah mengalami degenerasi butir dan degenerasi lemak (Gambar 2). Terjadinya degenerasi lemak disebabkan adanya serangan radikal

bebas yang menyebabkan peroksidasi lipid. Degenerasi dalam patologi dapat didefinisikan secara luas sebagai kehilangan struktur dan fungsi normal yang biasanya bersifat progresif serta tidak ditimbulkan oleh induksi radang dan neoplasia. Degenerasi sel sering diartikan sebagai kehilangan struktur normal sel sebelum kematian sel (Spector *et al*, 1993). Menurut Harada *et al* (1999), perubahan ini merupakan tanda awal kerusakan sel yang disebabkan oleh zat toksik.

Degenerasi yang terjadi pasca pemberian urin sapi bali belum parah, vakola yang terbentuk berupa vakola kecil-kecil dan sedikit vakola besar tetapi belum mendesak inti ke pinggir. Perubahan yang reversible akan menjadi irreversible, yaitu terjadinya kematian sel. Proses kematian sel dapat terjadi secara apoptosis dan nekrosa.

Hasil pengamatan kelompok K4 yang diberi urin sapi bali dengan dosis 2 cc/ekor/hari menunjukkan adanya perubahan sel hati berupa pembelahan sel abnormal yang ditunjukkan oleh sel besar berinti banyak (sel membesar dan memiliki inti sel lebih dari 1) yang ditunjukkan oleh Gambar 2. Selain itu terlihat adanya nekrosis (kematian sel). Pada Gambar 2 nekrosis ditandai dengan terlihatnya inti sel hati yang mengalami penyusutan dan warnanya gelap. Secara mikroskopik, nekrosis bersifat koagulatif yang ditandai dengan inti hepatosit berubah menjadi suram, gelap, dan terdapat inti hepatosit yang mengalami karioreksis (penyusutan inti sel, mengecil dan akhirnya menghilang) (Nabib, 1987).

Hipotesis : Pemberian urin sapi bali dapat berpengaruh terhadap kadar ALT dan AST serta gambaran histopatologi pada hati tikus normal

Penunjang I : Berdasarkan hasil uji sidik ragam menyatakan bahwa urin sapi bali mampu menurunkan dan meningkatkan kadar ALT dan AST pada hati tikus normal yang berbeda nyata ($P < 0,05$) bila dibandingkan dengan kontrol (Tanpa pemberian urin sapi bali)

Penunjang II : Semakin tinggi pemberian dosis urin sapi bali pada tikus dapat menyebabkan kerusakan sel hati. Hal ini dibuktikan dengan gambaran histopatologi hati mengalami degenerasi dan meningkatnya kadar enzim transaminase secara bermakna pada kelompok yang hanya diberi urin sapi bali

Kesimpulan : Hipotesis diterima

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat ditarik beberapa simpulan sebagai berikut: urin sapi bali mengandung nitrogen oksida (N_2O), asam isosianat, asam asetat, fenol, asam propenoat, dan octacosane. Pemberian urin sapi bali berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar ALT (Alanin Aminotransferase) dan AST (Aspartat Aminotransferase) plasma pada tikus. Pemberian urin sapi bali dosis 2 cc/ekor/hari bersifat toksik ditandai dengan menyebabkan kadar ALT dan AST lebih tinggi dibandingkan kelompok lainnya dan secara histopatologi terlihat sel hati mengalami nekrosis.

SARAN

Urin sapi bali bisa dijadikan sebagai pengobatan yang berkhasiat menurunkan kadar ALT dan AST. Diharapkan dengan pemberian urin sapi bali dapat mencegah terjadinya kerusakan sel hati dan jaringan hati, sehingga kerusakan sel lebih lanjut dapat dicegah yang diakibatkan oleh radikal bebas.

DAFTAR PUSTAKA

- Adji P. (2004). Daya antioksidasi saponin akar kuning (*Archangelisia flava* L. Merr) sebagai mekanisme hepatoproteksi pada tikus yang diinduksi parasetamol [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Akbar, N. (1995). Diagnostik Hepatitis Akut dan Kronis. Jakarta: Bagian Ilmu Penyakit Dalam FKUI/RSCM.
- Amin, I. (1995). Pengaruh Pemberian Seduhan Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*, VAL) Terhadap Aktivitas ALT dan AST Ayam. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Budiarso, T. I. (2002). Terapi Auto Urin. Jakarta.
- Callbreath, D. F. (1992). Clinical Chemistry. W. B. Saunder Company, USA.
- Dalimartha, S. (2004). Seri Agrisehat Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Hepatitis. Penebar Swadaya. Jakarta
- Girindra, A. (1986). Patologi Klinik Veteriner. Fakultas Kedokteran hewan IPB. Bogor.
- Guyton, A.C. (1996). Teksbook of Medical Physiology, philadelphia. Elsevier saunders.

- Harada T, Akiko E, Gary AB, Robert RM.(1999). Liver and Gallbladder. Maronpot RR, editor Pathology of the mouse : Reference and Atlas United States of America : Cache River Press.
- Hollands MA, Logan JE. (1966). An examination of commercial kits for the determination of glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvic transaminase (GPT) in serum. Canada. J Med. Ass. 95: 303-307.
- Junqiera, L. C. J., and R. O. Kelley. (1995). Histology Dasar, edisi II, alih bahasa J. Tambayong. Buku Kedokteran. Jakarta.
- Kiernan, J. A. (1990). Histopatological and Histochemical Methods: Theory and Praticce. Pergamon Press.
- Kumar, J. V. (2009). Urine Sapi Bisa Sembuhkan Banyak Penyakit. [http://yogsandesh.org/articles/136/1/cow-urine-can-care-many-diseases/page: 1. html](http://yogsandesh.org/articles/136/1/cow-urine-can-care-many-diseases/page:1.html). (tanggal akses 23 maret2001).
- Levent, G. (2006). Oxidative stress and antioxidant defense in patients before and after pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin therapy. J Trans Medicine 10: 425.
- Nabib R. (1987). Patologi Khusus Veteriner. Ed ke-2. Bogor: Laboratorium Patologi Jurusan Parasitologi dan Patologi Fakultas Kedokteran Veteriner IPB.
- NOHSC [National Occupational Health and Safety Commission]. (1994). Approved Criteria for Classifying Hazardous Substances [NOHSC:1008(1994)], Australian Government Publishing Service, Canberra.
- Ressang, A. A. (1984). Patologi Khusus Veteriner. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rusmiati, L.A. (2004). Struktur histologi organ hepar dan ren mencit(*Mus Musculus L*) jantan setelah perlakuan dengan ekstrak kayu secang(*Caesalpinia Sappan L.*) Vol 1 No Hlmn 23-30.
- Spector WG, Spector TD.(1993). Pengantar Patologi Umum. Edisi ke 3.
- Steel, R. G. D., Torrie, J.H. (1993). Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Stockham SL, Scott MA. (2002). Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. Ed ke-1. Iowa: state Pr. Blackwell PublishingCo. hlm. 433-486.
- WHO [World Health Organization]. (1977). Oxides of Nitrogen Environmental Health Criteria 4. Geneva.
- Yoneda, N., Kusano, S., Yasui, M., Pujado, P., Wilcher, S. (2001). Recent advances in processes and catalysts for the production of acetic acid. Applied Catalysis A, General 221 (1-2): 253–265.