



Pemberian Ekstrak Benalu Mangga terhadap Perubahan Histologis Hepar Tikus yang Diinduksi Kodein

Administration of Extract of Mango's Mistletoes on Liver Histology of Codein-Induced Rats

✉ Sekar Maya Wijaya M, Lisdiana, Ning Setiati

DOI: 10.15294/biosaintifika.v6i2.3103

Department of Biology FMIPA, State University of Semarang, Indonesia

Info Artikel

Diterima Juli 2014
Disetujui Agustus 2014
Dipublikasikan September 2014

Keywords:

Extract of Mango's Mistletoes; Liver Histology

Abstrak

Benalu mangga mengandung senyawa kuersetin yang bertindak sebagai hepatoprotektor. Kodein merupakan jenis alkaloid dan banyak digunakan sebagai obat. Oversdosis kodein dapat menyebabkan kerusakan hepar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak benalu mangga terhadap perubahan histologis hepar tikus yang diinduksi kodein. Sebanyak 20 ekor tikus wistar jantan dibagi menjadi 5 kelompok (K0, K, KB1, KB2, dan KB3). Kelompok K0 hanya diberi minum dan pakan standar, kelompok K diberi kodein 12mg/ekor selama 7 hari, selanjutnya hanya diberi pakan dan minum standar. Kelompok KB1 diberi kodein 12mg/ekor selama 7 hari dilanjutkan ekstrak benalu mangga 22mg/ekor sampai hari ke 21, kelompok KB2 diberi kodein 12mg/ekor selama 7 hari dilanjutkan ekstrak benalu mangga 44mg/ekor sampai hari ke 21, dan kelompok KB3 diberi kodein 12mg/ekor selama 7 hari dilanjutkan ekstrak benalu mangga 88mg/ekor sampai hari ke 21. Hari ke-27 semua tikus dibedah, diambil heparnya dan dibuat preparat histologi dengan pengecatan HE. Hasil penelitian kelompok K0 menunjukkan perubahan histologis hepar bermakna ($p < 0,05$) antara K, KB1, KB2, dan KB3, sedangkan kelompok K tidak menunjukkan perubahan bermakna ($p > 0,05$) antara K, KB1, KB2, dan KB3. Pada kelompok K kerusakan struktur hepar meliputi inflamasi perportal dan degenerasi sedangkan pada kelompok KB1, KB2, dan KB3 kerusakan meliputi inflamasi periportal, degenerasi, dan nekrosis.

Abstract

Mango's mistletoes contain quercetin, a hepatoprotector. Codein is a type of alkaloids widely used as drug. Codein overdose can damage the liver. This study aims to investigate the effect of the administration of extract of mango's mistletoes on the changes of liver histology of codein-induced rats. As many as 20 male wistar rats were divided into 5 groups (K0, K, KB1, KB2, and KB3). K0 group were given only standard diet and water daily. K group were given codeine at 12mg/rats for 7 days, and afterwards they were given only standard diet and water daily. KB1 group were given codeine at 12mg/rats for 7 days and then were given extract of mango's mistletoes at 22 mg/rats until day 21, KB2 group were given codeine at 12mg/rats for 7 days and then were given extract of mango's mistletoes at 44 mg/rats until day 21, and KB3 group were given codeine at 12mg/rats for 7 days and were given extract of mango's mistletoes at 88 mg/rats until day 21. On day 27, all rats were killed, the livers were taken out for preparations with HE staining for histology examination. Research showed that K0 group was significantly different ($p < 0.05$) to K, KB1, KB2, and KB3 groups, whereas K group was not significantly different to KB1, KB2 and KB3 groups. Rats in K group showed the changes in histological appearance such as periportal inflammation and degeneration, whereas rats in KB1, KB2, KB3 groups showed similar histological appearance but with necrosis.

© 2014 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:
Gedung D6 Lt.1, Jl. Raya Sekaran, Gunungpati, Semarang, Indonesia 50229
E-mail: sekarmaya19@yahoo.co.id

p-ISSN 2085 - 191X
e-ISSN 2338-7610

PENDAHULUAN

Hepar merupakan kelenjar pencernaan yang berperan penting dalam proses metabolisme dan detoksifikasi berbagai macam senyawa, termasuk obat (Hastuti 2006). Kodein merupakan salah satu jenis obat, sebagian besar penggunaan kodein dalam obat dikombinasikan dengan paracetamol, peniltoloksomin dan asetosal. Beberapa contoh obat yang mengandung kodein adalah *coditam* dan *codipront*. Hepar dapat mengalami kerusakan akibat induksi obat dosis berlebih. Kerusakan hepar ditandai dengan adanya perubahan struktur mikroanatominya.

Kodein yang diberikan melalui oral akan melewati saluran pencernaan kemudian diabsorpsi oleh usus (Willian *et al* 2001). Di dalam usus, obat akan mengalami absorpsi secara tidak lengkap sehingga menembus dinding usus menuju hepar melalui vena porta kemudian obat akan dimetabolisme di hepar (Katzung, 2001).

Proses metabolisme kodein berlangsung melalui tiga jalur yaitu glukurodinasi, N-demetilasi, dan O-demetilasi. Mofin-3-glukuronida (M3G) dan Morfin-6-glukuronida (M6G) merupakan hasil metabolisme kodein (Madadi & Koren 2008). Konsentrasi M3G dan M6G secara substansial dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan ekskresi sebagai aktivitas opioid (Gasche *et al.* 2005). Penumpukan metabolisme termetilasi dapat mengakibatkan penurunan fungsi ginjal dan hati dengan penggunaan dosis tinggi dan jangka panjang.

Hepatotoksitas dapat diatasi oleh bahan yang mengandung flavonoid, seperti benalu. Benalu merupakan tanaman semiparasit yang banyak ditemukan menempel pada tumbuhan inang. Benalu yang mengandung kadar flavonoid cukup tinggi adalah benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*). Benalu mangga mengandung senyawa antioksidan utama yaitu, kuersetin (Artanti *et al.*2012). Kuersetin bertindak meningkatkan *total glutation* di sel, sedangkan xenobiotik pada makromolekul seluler mengosongkan *glutation* lebih cepat. Hal tersebut menunjukkan kuersetin memiliki kemungkinan mencegah kerusakan sel-sel yang disebabkan oleh radikal bebas, karena dengan diproduksinya glutation, akan membentuk

kompleks yang kurang berbahaya (Durgo *et al.* 2007).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak benalu mangga terhadap perubahan histologis hepar tikus yang diinduksi kodein.

METODE

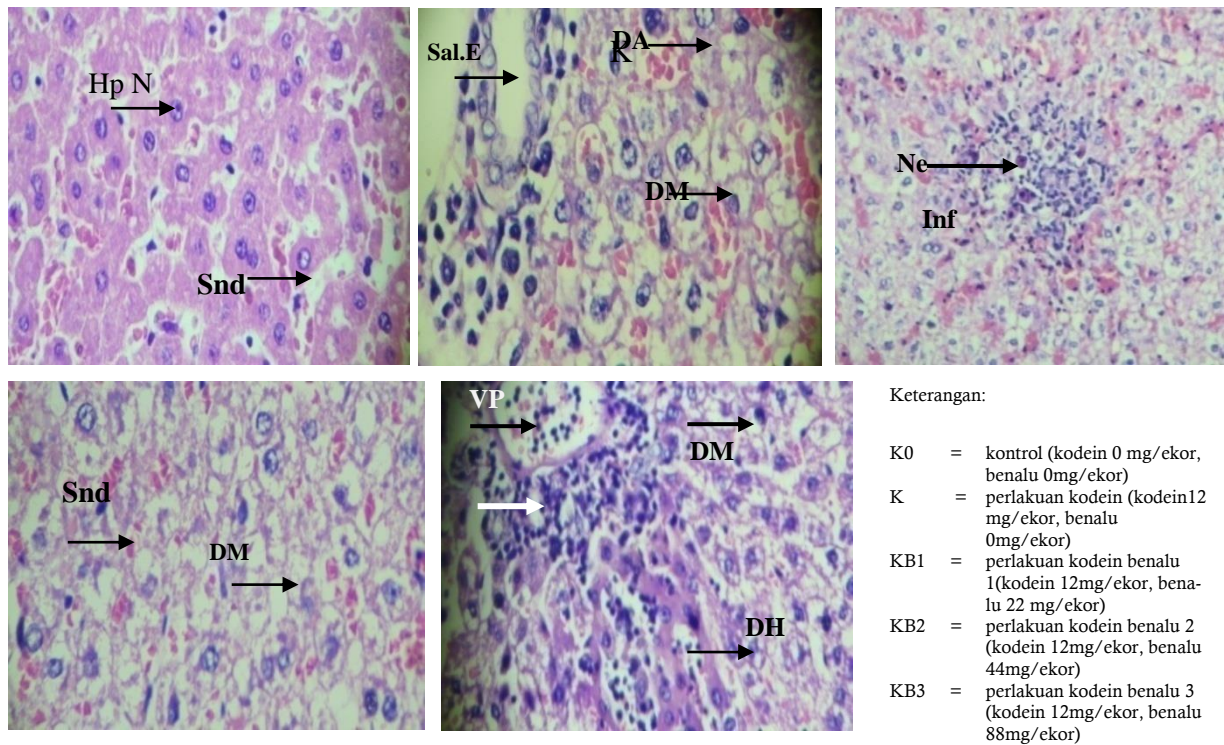
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pola *the posttest only control group design*. Tikus wistar jantan dengan bobot 150-200 gram sebanyak 20 ekor dibagi menjadi 5 kelompok (K0, K, KB, KB2, dan KB3), masing-masing kelompok ada 4 ekor tikus dan mendapatkan pakan dan minum standart. Kelompok K0 merupakan kelompok kontrol (hanya diberi pakan standar). Kelompok K diberi kodein dosis 12mg/ekor selama 7 hari dan diberi pakan standar selama 14 hari berikutnya. Kelompok KB1 diberi kodein dosis 12mg/ekor selama 7 hari, dilanjutkan pemberian benalu dosis 22 mg/ekor selama 14 hari (pada hari ke 7-21). Kelompok KB2 diberi kodein dosis 12mg/ekor selama 7 hari, dilanjutkan pemberian benalu dosis 44 mg/ekor selama 14 hari (pada hari ke 7-21). Kelompok KB3 diberi kodein dosis 12mg/ekor selama 7 hari, dilanjutkan pemberian benalu dosis 88 mg/ekor selama 14 hari (pada hari ke 7-21). Hari ke 22-26 semua tikus hanya dibri minum dan pakan standar. Pada hari ke-27 tikus dibedah untuk diambil hepar kemudian difiksasi dengan formalin dan dibuat preparat mikroanatomi dengan pewarnaan HE. Data yang diambil dari penelitian ini adalah mikroanatomi hepar tikus dan skoring derajat perubahan struktur mikroanatominya. Data gambaran histologis hepar tikus tiap kelompok, dianalisis secara dikriptif dan statistik dengan membandingkan perubahan struktur histologis hepar tikus antar kelompok menggunakan literatur dan atlas hispatologi (Zhang 1999; Ferrell & Kakar 2011).

Nilai skoring diolah dengan menggunakan program komputer SPSS versi 16.0. Data diuji normalitasnya dengan uji Kolmogorov-Smirnova. Apabila didapatkan distribusi data yang normal, maka dilakukan uji beda menggunakan *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc*. Apabila didapatkan distribusi data yang tidak

normal, maka dilakukan uji beda dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* yaitu *Mann whitney*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemberian ekstrak benalu mangga dosis bertingkat menunjukkan adanya perubahan sel hepar. Hasil pengamatan preparat menunjukkan adanya kerusakan hepar berupa inflamasi periportal, degenerasi dan nekrosis (Gambar 1).



Gambar 1 Histologis sel hepar, (Hp N) hepatosit normal; (Snd) sinusoid; (sal E) saluran empedu; (VP) vena porta; (Inf P) inflamasi periportal; (DA) degenerasi albuminosa; (DH) degenerasi hidropik; (DM) degenerasi melemak; (Ne) nekrosis; (Inf) inflamasi/peradangan

Gambaran mikroantomi sel hepar pada kelompok kontrol (K0) menunjukkan struktur penyusun sel hepar normal, batas sinusoid jelas, tidak ada vakuola, tidak ditemukan adanya nekrosis dan degenerasi. Pada kelompok K terdapat kerusakan struktur hepar berupa inflamasi periportal, degenerasi albuminosa, degenerasi hidropik dan degenerasi melemak. Kerusakan struktur hepar pada kelompok KB1, KB2, dan KB3 berupa inflamasi periportal, degenerasi hidropik, degenerasi melemak, nekrosis. Pada kelompok KB1 terdapat nekrosis dengan inti pikotik (inti menjadi lebih padat dan warna menjadi lebih gelap), dan terlihat sel radang mengelilingi sel nekrosis. Radang (inflamasi) merupakan mekanisme pertahanan tubuh disebabkan adanya respons jaringan terhadap pengaruh-pengaruh merusak baik bersifat lokal maupun yang masuk ke dalam

tubuh. Pengaruh-pengaruh merusak (noksi) dapat berupa noksi fisika, kimia, bakteri, parasit, asam, basa kuat dan bakteri. Zona periportal merupakan daerah yang paling dekat dengan suplai vaskuler dari traktus portalis. Pada daerah zona periportal terdapat vena porta yang berfungsi membawa nutrient, vitamin, bahkan zat toksik dari saluran cerna ke hati. Oleh karena zona periportal akan terpapar oleh kodein lebih dahulu dan memberikan respon berupa sel radang.

Degenerasi merupakan tanda awal kerusakan hati akibat toksin yang bersifat sementara (*reversible*) dan sel masih dapat pulih atau normal kembali apabila paparan toksin dihentikan (Harada *et al.* 1999). Degenerasi ditandai dengan perubahan sitoplasma sel karena cairan sel bertambah dan membengkak, tetapi inti sel dapat mempertahankan integritas selama sel

tidak mengalami cedera yang parah. Degenerasi albuminosa disebut juga degenerasi parenkimatosia merupakan degenerasi teringan yang ditandai dengan terjadi kekeruhan, pembekakkan sitoplasma dan sitoplasma berglanula. Terjadinya degenerasi albuminosa dikarenakan sel yang terkena jejas tidak mampu mengeliminasi air sehingga tertimbun di dalam sel sehingga mengalami pembengkakan dan nampak berglanula (Hapsari 2010). Degenerasi hidropik ditandai dengan sitoplasma mengalami vakuolisasi dan vakuola-vakuola nampak jernih. Degenerasi hidropik kondisi dimana sel menerima cairan lebih banyak dari normalnya dan terakumulasi dalam sitoplasma sel sehingga sitoplasma sel membengkak. Degenerasi melemap pada hati menunjukkan ketidakseimbangan proses metabolisme, sehingga terjadi perubahan morfologi dan penurunan fungsi hepar akibat akumulasi lemak dalam sitoplasma. Degenerasi

melemap ditandai dengan vakuola-vakuola yang berisi lemak dan mendesak inti ke tepi sel (Mulyono, *et al.* 2006). Degenerasi yang berlangsung terus-menerus akan menyebabkan kematian sel (nekrosis).

Tingkat kerusakan mikroantomi hepar tikus dapat dilihat pada Tabel 1. Uji normalitas skoring kerusakan hepar didapatkan data distribusi tidak normal, maka data dihitung dengan uji *Kruskall Wallis*. Pada kelompok K0 ditemukan adanya inflamasi periportal, tetapi kerusakan selnya masih bersifat ringan. Pada kelompok K terdapat kerusakan hepar berupa degenerasi dan inflamasi periportal, sedangkan pada kelompok KB1, KB2, dan KB3 terdapat perubahan berupa, inflamasi periportal, nekrosis dan degenerasi. Nekrosis yang ditemukan tingkat kerusakannya masih bersifat ringan. Skoring perubahan struktur histologi sel hepar dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1 Tingkat kerusakan mikroanatomi hepar tikus

Kelompok	Inflamasi periportal	Degenenerasi	Nekrosis
K0	+	0	0
K	++	+++	0
KB1	++	+++	+
KB2	++	+++	+
KB3	++	+++	+

Keterangan +=ringan; ++=sedang; +++=berat; 0=tdk ditemukan

Tabel 2 Nilai skoring perubahan struktur histologi sel hepar pada semua kelompok

Kelompok	Nilai Skoring		
	Inflamasi periportal	degenerasi	nekrosis
K0	20,50 ^a	11,00 ^a	38,00 ^a
K	62,50 ^a	64,50 ^a	38,00 ^b
KB1	53,70 ^b	61,62 ^a	65,50 ^b
KB2	53,70 ^c	60,68 ^a	53,00 ^c
KB3	62,50 ^d	54,50 ^a	58,00 ^d

Huruf *superskrif* berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil uji *Kruskall wallis*

Pada Tabel 2 menunjukkan nilai skoring perubahan struktur histologis berupa inflamasi periportal, degenerasi dan nekrosis pada semua kelompok perlakuan. Hasil nilai skoring dengan uji *Kruskall Wallis*, pada perubahan struktur histologi sel hepar berupa inflamasi periportal didapatkan $\chi^2 = 37,078$; $df = 4$; $p = 0,000$. Pada perubahan

struktur histologi sel hepar berupa degenerasi didapatkan $\chi^2 = 77,134$; $df = 4$; $p = 0,000$. Pada perubahan struktur histologi sel hepar berupa nekrosis didapatkan $\chi^2 = 25,344$; $df = 4$; $p = 0,000$.

Perubahan berupa inflamasi periportal pada kelompok K0 terdapat perubahan bermakna ($p < 0,05$) dengan kelompok perlakuan (K, KB1, KB2

dan KB3), sedangkan antar kelompok perlakuan (K, KB1, KB2 dan KB3) tidak terdapat perubahan bermakna ($p>0,05$). Hasil skoring menunjukkan peningkatan kerusakan pada kelompok K, kemudian pada kelompok KB1 menunjukkan tingkat kerusakan yang menurun dan pada kelompok KB3 menunjukkan peningkatan kerusakan. Radang (inflamasi) merupakan mekanisme pertahanan tubuh disebabkan adanya respon jaringan terhadap pengaruh-pengaruh merusak baik bersifat lokal maupun yang masuk ke dalam tubuh. Pengaruh-pengaruh merusak (noksi) dapat berupa noksi fisika, kimia, bakteri, parasit, asam, basa kuat dan bakteri.

Perubahan struktur degenerasi pada kelompok K0 terdapat perubahan bermakna ($p<0,05$) dengan kelompok perlakuan (K, KB1, KB2 dan KB3) sedangkan, antar kelompok perlakuan (K, KB1, KB2 dan KB3) tidak terdapat perubahan bermakna ($p>0,05$). Hasil skoring menunjukan peningkatan kerusakan yang tidak signifikan ($p<0,05$) pada kelompok K, KB1, KB2 dan KB3. Degenerasi ditandai dengan perubahan sitoplasma sel karena cairan sel bertambah dan membengkak, tetapi inti sel dapat mempertahankan integritas selama sel tidak mengalami cedera yang parah. Degenerasi yang berlangsung terus-menerus akan menyebabkan kematian sel (nekrosis).

Perubahan struktur nekrosis pada kelompok K0 tidak terdapat perubahan bermakna ($p>0,05$) dengan kelompok K, tetapi kelompok K0 dan K berbeda bermakna dengan kelompok perlakuan (KB1, KB2 dan KB3) ($p<0,05$). Hasil skoring menunjukkan peningkatan kerusakan pada kelompok KB1, kemudian pada kelompok KB2 menunjukkan tingkat kerusakan yang menurun dan pada kelompok KB3 menunjukkan peningkatan kerusakan. Kematian sel nekrosis dikarenakan adanya kerusakan sistem membran sel yang menyebabkan lisis dan kematian sel.

Kodein merupakan salah satu jenis alkaloid yang berasal dari opium (Katzung 2001) dan digunakan sebagai obat batuk, obat anti-diare dan obat nyeri yang diperkuat melalui kombinasi parasetamol atau asetosal (Tjay & Rahardja 2007). Kodein yang diberikan secara oral, masuk melalui sistem pencernaan kemudian diabsorpsi oleh usus (Willian *et al* 2001). Di dalam usus, obat akan

mengalami absorpsi secara tidak lengkap sehingga menembus dinding usus menuju hepar melalui vena porta kemudian obat akan dimetabolisme di hepar (Katzung 2001). Pemberian kodein secara oral pada dosis tinggi dapat menyebabkan hepatoksisitas.

Mekanisme kerusakan sel hepar karena obat melibatkan enzim sitrokrom p-450 yang menyebabkan ikatan kovalen obat dengan protein intrasel. Hal itu berakibat terjadinya difungsi intraseluler berupa hilangnya gradien ion, penurunan kadar ATP, dan distrupsi aktin pada permukaan hepatosit yang menyebabkan pembekakan sel dan berakhir dengan kematian sel. Efek analgesik kodein tergantung pada pembentukan morfin dan M6G pada proses metabolismenya. Biotransformasi kodein menjadi morfin dikatalisis oleh enzim sitrokrom P450 (CYP2D6) melalui O-demetilasi. Morfin pada glukoronidasi selanjutnya diubah menjadi M6G sebagai metabolik aktif dan M3G sebagai metabolik inaktif (Eissing *et al.* 2012). Konsentrasi morfin, M3G, dan M6G secara substansial menyebabkan adanya kerusakan jaringan ekresi (Gasche *et al.* 2005). Meningkatnya pembentukan morfin pada metabolisme kodein dikarenakan kontribusi jalur CYP2D6 yang besar, sehingga secara tidak langsung paparan M6G dipengaruhi oleh pembentukan morfin yang tinggi. Hal tersebut berdampak pada aktifitas UGT2B7 rendah (Robinson *et al.* 2010).

Induksi kodein pada dosis tinggi dapat menyebabkan hepatotoksitas. Sekitar 10% kodein yang diberikan mengalami metabolisme di hepar menjadi morfin, yang bertanggung jawab pada efek analgesia pada kodein (Yudhowibowo *et al.* 2011). Meningkatnya morfin pada hasil metabolisme kodein menyebabkan penurunan tingkat *glutathion*, dengan tidak adanya *glutathion*, metabolit reaktif akan mengadakan reaksi dengan gugus nukleofilik yang terdapat pada makromolekul sel dan dapat berakibat pada hepatotoksitas (Katzung, 2001).

Hasil penelitian pada kelompok KB1, KB2, dan KB3 ditemukan kerusakan hepar inflamasi periportal, degenerasi, dan nekrosis. Nekrosis ditemukan pada kelompok KB1, KB2, dan KB3 karena pada proses ekstraksi benalu mangga terdapat senyawa selain kuersetin. Senyawa utama flavonoid yang terkandung pada benalu mangga

adalah kuersetin (Artanti *et al.* 2009). Pada penelitian sebelumnya penggunaan kuersetin maupun benalu dapat memperbaiki kerusakan mikroanatomi hepar.

Ekstraksi benalu mangga dilakukan dengan cara maserasi. Maserasi adalah proses ekstraksi dengan cara perendaman serbuk dalam air atau pelarut organik sampai meresap yang akan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang terkandung didalamnya akan larut (Daud *et al.* 2011). Pada hasil ekstrak benalu mangga terdapat senyawa antioksidan selain kuersetin yaitu saponin, alkanoid dan tannin (Artanti *et al.* 2009). Senyawa antioksidan saponin, alkanoid dan tanin yang terdapat dalam benalu mangga pada dosis tinggi akan mengalami perubahan menjadi prooksidan. Konsentrasi antioksidan yang diberikan berpengaruh pada laju oksidasi. Jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji. Pada konsentrasi tinggi aktivitas antioksidan berubah menjadi prooksidan yang dapat merusak sel (Suryani *et al.* 2013). Ketika dosis antioksidan dan prooksidan tidak seimbang atau kadar antioksidan tinggi sedangkan prooksidan rendah, maka tubuh akan membentuk senyawa prooksidan untuk menyeimbangkan kadarnya dengan antioksidan, dan hal ini akan membuat sel-sel radikal bebas. Aktivitas prooksidan dapat menurunkan tingkat glutathion yang mengakibatkan hepatoksisitas. Kuersetin pada benalu mangga bertindak memperbaiki sel hepar yang rusak akibat paparan kodein, karena dengan diproduksinya *glutathion* akan membentuk kompleks yang kurang berbahaya (Durgo *et al.* 2007), tetapi saponin, alkanoid dan tanin yang terdapat pada benalu mangga pada konsentrasi tinggi aktivitas antioksidan berubah menjadi prooksidan. Sehingga tubuh tidak dapat menyeimbangkan yang mengakibatkan hepatoksisitas.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak benalu mangga pada semua kelompok tikus kelompok kodein 12mg/200gram BB dan ekstrak benalu mangga dengan dosis bertingkat per oral menyebabkan perubahan yang tidak bermakna ($p>0,05$).

Perubahan sel hepar meliputi degenerasi, inflamasi dan nekrosis. Nekrosis pada mikroanatomi sel hepar kelompok kodein 12mg/200gram BB dan ekstrak benalu mangga dengan dosis bertingkat disebabkan karena dosis benalu mangga yang tinggi sehingga antioksidan berubah menjadi prooksidan

DAFTAR PUSTAKA

- Artanti N, Firmansyah T, Darmawan A. (2012). Bioactivities Evaluation of Indonesian Mistletoes (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) Leaves Extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*;1:24-27.
- _____, Widayanti R, Fajriah S. (2009). Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak air dan Etanol Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq) yang tumbuh pada berbagai inang. *JKTI*;11(1):39-42.
- Daud MF, Radiah ER, Rismawati E. (2011). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Berdaging Putih. *Prosiding SNaPP2011 Sains, Teknologi, dan Kesehatan*: 55-62
- Durgo K, Vukovi L, Rusak G, Osmak M, Franekij. (2007). Effect of Flavonoids on Glutathione Level, Lipid Peroxidation and Cytochrome P450 CYP1A1 Expression in Human Laryngeal Carcinoma Cell Lines. *Food Technology Biotechnol*;45(1):69-79.
- Eissing T, Lippert J, Willman S. (2012). Pharmacogenomics of Codeine, Morphine, and Morphine-6-Glucuronide Model-Based Analysis of the Influence of CYP2D6 Activity, UGT2B7 Activity, Renal Impairment, and CYP3A4 Inhibition. *Mol Diagn Ther*;16(1): 43-53.
- Ferrel LD, Kakar S. (2011). *Liver Pathology*. Pennsylvania: Demos Medical Publishing.
- Ferreirós N, Dresen S, Clausen MH, Auwaerther V, Thierauf A, Müller C, Hentschel R, Trittler R, Skopp G, Weinmann W. (2009). Fatal and severe codeine intoxication in 3-year-old twins—interpretation of drug and metabolite concentrations. *Journal Legal Med*;123:387-394.
- Gasche Yuan, Daali Y, Fathi M, Chiappe A, Cottini S, Dayar P, Desmuelles J. (2005). Kodein Intoxication Associated with Ultrarapid CYP2D6 Metabolism. *The New England Journal of Medicine*;351(27):2827-2831.
- Hapsari RA. (2010). *Pengaruh Lama Pemberian Metanol 50 % Per Oral terhadap Tingkat Kerusakan Sel Hepar pada Tikus Wistar* [Karya Tulis Ilmiah].

- Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro Semarang.
- Harada T, Enomoto A, Boorman GA, Maronpot RR. (1999). *Liver and Gallbladder In: Pathology of The Mouse Reference and Atlas Edisi 1*. Cache River Press. 119-136 Hlm.
- Hastuti US. (2006). Pengaruh Berbagai Dosis Citrinin terhadap Kerusakan Struktur Hepatosit Mencit (*Mus musculus*) pada Tiga Zona Lobulus Hepar. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*;22(3):121-124.
- Katzung BG. (2001). *Farmacologi Dasar dan Klinik buku 3*. Sjabana D *et al*, penerjemah. Jakarta: Salemba Medika. Terjemahan dari: *Basic and Clinical Pharmacology*.
- Madadi P, Koren G. (2008). Pharamcogenetic Insight into Kodeine Analgesia : Implication to Pediatric kodein use. *Pharmacogenomics*;9(9):1267-1284
- Mulyono A, Ristiyanto, Soesanti N. (2006). Karakteristik Histopatologi Hepar Tikus Got *Rattus norvegicus* Infektif *Leptospira sp.* *Jurnal Vektora* 1(2):84-92
- Robinson G, Robinson S, McCarthy P, Cameron C. (2010). Misuse of Over-the-Counter Kodeine-Containing Analgesics: Dependence and Other Adverse Effects. *Journal of the New Zealand Medical Association*;1317(123):59-64
- Suryani N, Endang T, Aulanni'am. (2013). Pengaruh Ekstrak Metanol Biji Mahoni terhadap Peningkatan Kadar Insulin, Penurunan Ekspresi TNF- α dan Perbaikan Jaringan Pankreas Tikus Diabetes. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*27(3):137-14.
- Williams DG, Dicknson A, Fitzgerald M, Howard RF. (2004). Developmental Regulation of Kodeine Analgesia in the Rat. *Anesthesiology*;100(1):92-97.
- Willian DG, Hatch DJ, Horward RF. (2001). Kodeine Phosphate in Paediatric medice. *British Journal*;86(3):413-421.
- Yudhowibowo II, Satoto HH, Sasongko H. (2011). Obat – Obat Anti Nyeri. *Jurnal Anestesiologi Indonesia* 3(3):179-205.
- Tjay TH, Rahardja K. (2007). *Obat-Obat Penting Khasiat Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingannya*. Jakarta:PT Elex Media Komputindo. 351Hlm.