



**UJI TOKSISITAS AKUT BIOPIGMENT KAROTENOID
SIMBION BAKTERI DENGAN INVERTEBRATA LAUT
(KAJIAN TERHADAP DUODENUM MENCIT BALB/C)**

*ACUTE TOXICITY TEST OF BIOPIGMENT CAROTENOID SYMBIONTS
MARINE INVERTEBRATE WITH BACTERIA
(STUDY IN DUODENUM OF BALB/C MICE)*

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai derajat sarjana strata-1 kedokteran umum**

MEILINDA HARAHAHAP

G2A007124

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO**

2011

Uji Toksisitas Akut Biopigmen Karotenoid Simbion Bakteri dengan Invertebrata Laut

(Kajian Terhadap Duodenum Mencit Balb/c)

Meilinda Harahap¹, Noor Wijayahadi²

ABSTRAK

Latar Belakang: Biopigmen karotenoid adalah contoh senyawa bioaktif yang dapat ditemukan pada mikroorganisme laut seperti bakteri laut. Salah satu kandungan senyawa kimianya adalah tannin. Dosis tinggi dari tannin dapat menimbulkan efek astringen berlebih yang mengakibatkan iritasi pada membran mukosa usus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian biopigmen karotenoid dosis bertingkat secara akut terhadap gambaran histopatologi duodenum mencit Balb/c.

Metode: Penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Only Controlled Group Design*. Sampel berupa 25 ekor mencit Balb/c yang dibagi menjadi 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan. Pemberian biopigmen karotenoid dilakukan secara per oral melalui sonde pada hari ke-1. K diberi aquadest, P1 diberi biopigmen karotenoid 5 mg/kgBB, P2 diberi 50 mg/kgBB, P3 diberi 500 mg/kgBB. Sedangkan P4 diberi 2000 mg/kgBB. Pada hari ke-8 dilakukan terminasi, duodenum diambil dan dibuat preparat histopatologi.

Hasil: Penelitian terhadap histopatologi duodenum dianalisa menggunakan uji *Oneway Anova* didapatkan $p=0,001$. Dilanjutkan analisis *post hoc*, diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan bermakna antara K-P3 ($p=0,033$), K-P4 ($p=0,001$), P1-P4 ($p=0,002$), dan P2-P4 ($p=0,016$).

Kesimpulan: Biopigmen karotenoid memberikan gambaran histopatologi duodenum yang berbeda bermakna dengan kontrol, berupa erosi hingga ulserasi.

Kata kunci: biopigmen karotenoid, gambaran histopatologi duodenum

¹ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Bagian Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

***Acute Toxicity Test of Biopigmen Carotenoid Symbionts Marine Invertebrate
with Bacteria***

(Study in Duodenum of Balb/c Mice)

Meilinda Harahap¹, Noor Wijayahadi²

ABSTRACT

Background: Biopigmen Carotenoid is the example of bioactive compounds that can be found in the sea marine microorganisms such as sea bacteria. One of the chemical compounds is tannin. High dose of tannin might cause excessive astringent effect leading to irritation on intestinal mucous membrane. The objective of this experiment was to know the effect of graded dose of biopigmen karotenoid in an acute manner on histopathological appearance of Balb/c mice duodenum.

Method: This research was an experimental study using The Post Test Only Controlled Group Design. 25 male Balb/c mice were divided into 1 control group and 4 treatment groups. The treatment was given only on the first day. The control group was given aquadest. The other groups, P1 was given biopigmen carotenoid with 5 mg/kgBB dose, P2 50 mg/kgBB, P3 500 mg/kgBB, and P4 2000 mg/kgBB. At 8th day, the Balb/c mice were terminated, duodenum were made into slides.

Result: Oneway Anova test that was used to observe duodenum histopathological showed significant difference between groups with $p=0,001$. There were significant difference between K-P3 ($p=0,033$), K-P4 ($p=0,001$), P1-P4 ($p=0,002$) and P2-P4 ($p=0,016$).

Conclusion: The study shown that biopigmen carotenoid give a significant difference of duodenal histopathological appearance with control group, as erosion and ulceration.

Keywords: Biopigmen carotenoid, hitopathological appearance of duodenum

¹ Undergraduate Student of Faculty of Medicine, Diponegoro University

² Lecture of Pharmacology and Therapeutic Department, Faculty of Medicine, Diponegoro University

PENDAHULUAN

Salah satu potensi besar yang dimiliki Indonesia adalah terumbu karang.¹ Beberapa penemuan tentang senyawa bioaktif baru untuk antibiotik, sumber pigmen, kosmetik, enzim dan lainnya banyak diperoleh dari bahan kimia produk alami biota penyusun ekosistem terumbu karang.² Biopigmen karotenoid adalah contoh senyawa bioaktif yang dapat ditemukan pada mikroorganisme laut seperti bakteri laut *Virgibacillus salaries*. Fungsi fotoproteksi dalam ekologi lautan tropis yang menerima cahaya matahari begitu kuat sepanjang tahun, mengakibatkan organisme laut tropis harus beradaptasi untuk bertahan dari paparan cahaya matahari yang merusak. Bentuk adaptasi tersebut diantaranya dengan mensintesis karotenoid yang menghasilkan warna merah sampai kuning.³

Beberapa golongan karotenoid memiliki nilai komersial seperti astaxantin β -vitro dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan, diantaranya sebagai precursor vitamin A, yang dapat membantu sistem kekebalan tubuh dengan cara melindungi reseptor sel-sel fagosit (sel-sel darah putih yang mampu membunuh kuman) dari kerusakan auto-oksidasi akibat terbentuknya radikal oksigen.³

Tannin merupakan salah satu senyawa kimia yang terkandung di dalam karotenoid. Memiliki berat molekul yang besar, afinitas yang kuat terhadap protein, dan daya kelarutan lemak yang rendah, akibatnya tannin diabsorpsi lebih sedikit dalam traktus gastrointestinal.⁴ Tannin dapat menyebabkan terbentuknya lapisan pelindung dari koagulasi protein pada mukosa usus bagian atas. Dosis tinggi dari tannin dapat menimbulkan efek astringen berlebih yang mengakibatkan iritasi pada membrane mukosa usus.⁵ Proanthocyanidins (kondensasi tannin) dapat

merusak mukosa traktus gastrointestinal, serta mengurangi absorpsi zat-zat makanan dan asam amino esensial, seperti methionine dan lisin.⁶ Hal itulah yang diduga sebagai faktor toksik yang menyebabkan perubahan gambaran histopatologi pada mukosa usus.

Semakin luasnya pemanfaatan senyawa bioaktif baru harus diikuti dengan serangkaian penelitian yang terpadu dan saling terkait melalui uji toksisitas, uji khasiat, dan uji klinik. Pada tahap ini akan dilakukan uji toksisitas akut yaitu uji terhadap efek suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberiannya dalam dosis tunggal. Dalam uji toksisitas akut, akan dicari besarnya dosis letal 50 (LD 50) yaitu dosis yang menyebabkan kematian 50% hewan coba dan data berupa gejala klinis, wujud, dan mekanisme efek toksik yang dapat dilihat pada perubahan patologi organ hewan coba.⁷

Secara farmakokinetik, setiap obat yang masuk ke dalam tubuh mengalami proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi.⁸ Banyak bahan-bahan yang potensial toksik masuk ke dalam tubuh melalui traktus gastrointestinal (usus). Struktur yang seperti villi pada mukosa dapat mengoptimalkan absorpsi, baik di bawah kendali aktif maupun pasif.⁹ Absorpsi zat kimia di usus halus selalu jauh lebih cepat dibandingkan lambung karena permukaan epitel usus halus jauh lebih luas dibandingkan dengan epitel lambung.⁸ Pada penelitian ini diberikan biopigmen karotenoid secara per oral. Dosis sediaan uji yang diberikan, terdiri dari empat peringkat dosis bertingkat.

Berdasarkan hal-hal yang telah diuraikan di atas, maka dapat dirumuskan masalah, yaitu: Apakah terdapat pengaruh pemberian biopigmen karotenoid dari

simbion bakteri dengan invertebrata laut secara akut dapat memberikan perubahan terhadap gambaran histopatologi duodenum mencit Balb/c?

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksisitas akut biopigmen karotenoid terhadap duodenum mencit Balb/c. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi kepada dunia kesehatan dan masyarakat dengan mengetahui pengaruh pemberian biopigmen karotenoid terhadap duodenum dalam dosis tertentu dan mengetahui dosis yang lebih aman, serta sebagai bahan pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan *Post Test Only Controlled Group Design*, yaitu jenis penelitian yang hanya melakukan pengamatan terhadap kelompok control dan perlakuan setelah diberikan suatu tindakan. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi, Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada bulan Maret hingga Juni 2011.

Populasi penelitian ini adalah mencit strain Balb/c jantan yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, umur 2-3 bulan dengan berat badan lebih kurang 25-35 gram, sehat, aktivitas dan tingkah laku normal, serta tidak terdapat abnormalitas anatomi yang tampak.

Sebelum mendapat perlakuan, ke-25 ekor mencit Balb/c mengalami masa adaptasi dengan dikandangkan dan diberi ransum pakan standard dan minum selama 7 hari secara *ad libitum*. Proses aklimatisasi ini dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Untuk selanjutnya, sampel dibagi secara acak menjadi 5 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 5 ekor mencit yaitu kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), perlakuan 3 (P3), perlakuan 4 (P4). Kelompok kontrol (K) hanya diberi aquadest per oral selama 7 hari. Kelompok perlakuan 1 (P1) diberi dosis biopigmen karotenoid 5 mg / kgBB. Kelompok 2 (P2) diberi dosis biopigmen karotenoid 50 mg / kgBB. Kelompok perlakuan 3 (P3) diberi dosis biopigmen karotenoid 500 mg / kgBB. Sedangkan kelompok perlakuan 4 (P4) diberi dosis biopigmen karotenoid 2000 mg / kgBB.

Pemberian biopigmen karotenoid pada mencit Balb/c dilakukan secara per oral melalui sonde lambung dan hanya diberikan satu kali, yaitu pada hari ke-1. Selanjutnya, untuk hari ke-2 hingga hari ke-7, tikus tetap diberi pakan standard dan diamati hingga ada yang mati.

Pada hari ke-8 dilakukan terminasi pada mencit Balb/c, kemudian duodenum diambil, dibersihkan, diamati secara makroskopis, dan dimasukkan ke dalam wadah berisi buffer formalin 10%. Untuk selanjutnya dibuat preparat yang diproses dengan metode baku histologi pembuatan jaringan. Pembuatan preparat histopatologi duodenum dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Dari setiap mencit Balb/c yang telah diterminasi, dibuat preparat duodenum dan tiap preparat dibaca dalam 5 lapangan pandang dengan perbesaran 400x. Sasaran yang dibaca adalah perubahan struktur epitel mukosa duodenum mencit Balb/c yang diamati setiap lapangan pandang dengan penilaian berdasarkan modifikasi Barthel Manja.

Tabel 1. Skor Integritas Epitel Mukosa¹⁰

No	Skor	Integritas Epitel Mukosa
1	0	Tidak ada perubahan patologis
2	1	Deskuamasi epitel
3	2	Erosi permukaan epitel (gap 1-10 sel epitel/lesi)
4	3	Erosi epitel (gap > 10 sel epitel/lesi)

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil penelitian gambaran histopatologi duodenum mencit Balb/c. Variabel bebas berupa pemberian biopigmen karotenoid secara per oral pada dosis bertingkat. Variabel tergantung berupa scoring derajat integritas epitel mukosa duodenum.

Data yang diperoleh kemudian diolah dengan menggunakan program computer SPSS 17.0 for Windows. Uji normalitas data menggunakan uji *Saphiro-Wilk*. Apabila sebaran data normal, maka diteruskan dengan uji parametric *Oneway Anova* dan dilanjutkan dengan analisis *post hoc*. Apabila sebaran data tidak normal, maka diteruskan dengan uji non parametric *Kruskal-Wallis* dan kemudian dilanjutkan dengan analisis *post hoc* yaitu uji *Mann-Whitney*.

HASIL

Selama berlangsungnya penelitian, dari 25 ekor mencit, tidak terdapat satu ekor mencit pun yang mati, dan tidak ada mencit yang masuk kriteria eksklusi sehingga semua mencit memenuhi syaratmasuk sebagai sampel penelitian. Terminasi seluruh tikus dan pengambilan organ duodenum dilakukan pada hari ke-8 penelitian. Hasil pengamatan secara makroskopis, tidak menunjukkan adanya erosi maupun perubahan yang tampak pada mukosa duodenum kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Data yang diperoleh dari hasil scoring gambaran histopatologi epitel mukosa duodenum diolah dengan program computer SPSS 17.0 for Windows. Tabel 2 menampilkan skor gambaran histopatologi duodenum secara deskriptif. Distribusi data diuji menggunakan uji Saphiro-Wilk dan didapatkan distribusi data yang normal ($p>0,05$).

Tabel 2. Skor integritas epitel mukosa duodenum berdasarkan modifikasi kriteria Barthel Manja

Kelompok Perlakuan	i	ii	iii	iv	v	Rerata
Kelompok kontrol (K)						
Mencit 1	2	1	1	1	0	1
Mencit 2	0	2	1	0	2	1
Mencit 3	1	1	1	0	1	0,8
Mencit 4	1	1	1	2	1	1,2
Mencit 5	0	2	2	1	1	1,2
Kelompok perlakuan (P1)						
Mencit 1	1	2	2	1	1	1,4
Mencit 2	0	1	2	2	3	1,6
Mencit 3	0	1	1	1	0	0,6
Mencit 4	1	0	1	2	2	1,2
Mencit 5	1	1	0	2	2	1,2
Kelompok perlakuan (P2)						
Mencit 1	2	1	2	2	2	1,8
Mencit 2	2	1	0	1	2	1,2
Mencit 3	1	1	2	2	1	1,4
Mencit 4	3	2	2	0	1	1,6
Mencit 5	0	1	2	1	2	1,2
Kelompok perlakuan (P3)						
Mencit 1	0	2	1	3	2	1,6
Mencit 2	2	3	2	1	2	2
Mencit 3	2	3	3	2	3	2,6
Mencit 4	1	1	2	2	1	1,4
Mencit 5	0	2	2	2	1	1,4
Kelompok perlakuan (P4)						
Mencit 1	3	3	3	2	2	2,6
Mencit 2	1	2	1	3	2	1,8
Mencit 3	3	3	2	3	3	2,8
Mencit 4	2	2	1	2	2	1,8
Mencit 5	3	3	2	2	2	2,4

Keterangan:

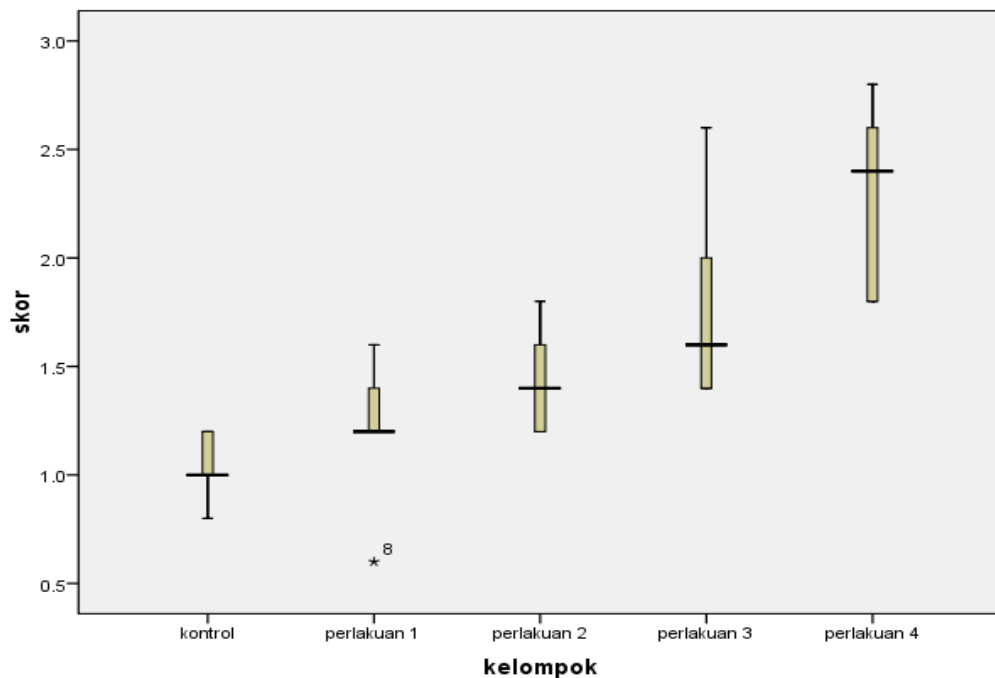
Kontrol (K) : tidak diberi perlakuan (biopigmen karotenoid), hanya diberi aquadest per oral

Perlakuan 1 (P1) : diberi dosis 1 biopigmen karotenoid 5 mg/kgBB

Perlakuan 2 (P2) : diberi dosis 2 biopigmen karotenoid 50 mg/kgBB

Perlakuan 3 (P3) : diberi dosis 3 biopigmen karotenoid 500 mg/kgBB

Perlakuan 4 (P4) : diberi dosis 4 biopigmen karotenoid 2000 mg/kgBB



Gambar 1. Box plot skor integritas epitel mukosa duodenum

Tabel 3 menampilkan rerata, dan standar deviasi skor total integritas epitel mukosa duodenum pada setiap kelompok. Rerata skor integritas epitel mukosa duodenum P4 (2,28) lebih tinggi dibandingkan kelompok lain, sedangkan mean paling rendah terdapat pada kelompok K (1,04)

Tabel 3. Nilai rerata dan standar deviasi skor integritas epitel mukosa duodenum

kelompok	N	Mean	SD
K	5	1,04	0,12
P1	5	1,20	0,37
P2	5	1,44	0,26
P3	5	1,80	0,51

Hasil uji varians diperoleh nilai $p=0,144$ ($p>0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa varians data adalah sama. Syarat uji parametric terpenuhi sehingga dilanjutkan dengan uji anova, diperoleh nilai $p=0,001$ ($p<0,05$), yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna pada paling tidak 2 kelompok perlakuan.

Analisis data diteruskan menggunakan analisis post hoc untuk menilai perbedaan masing-masing kelompok dan diperoleh hasil sebagai berikut.

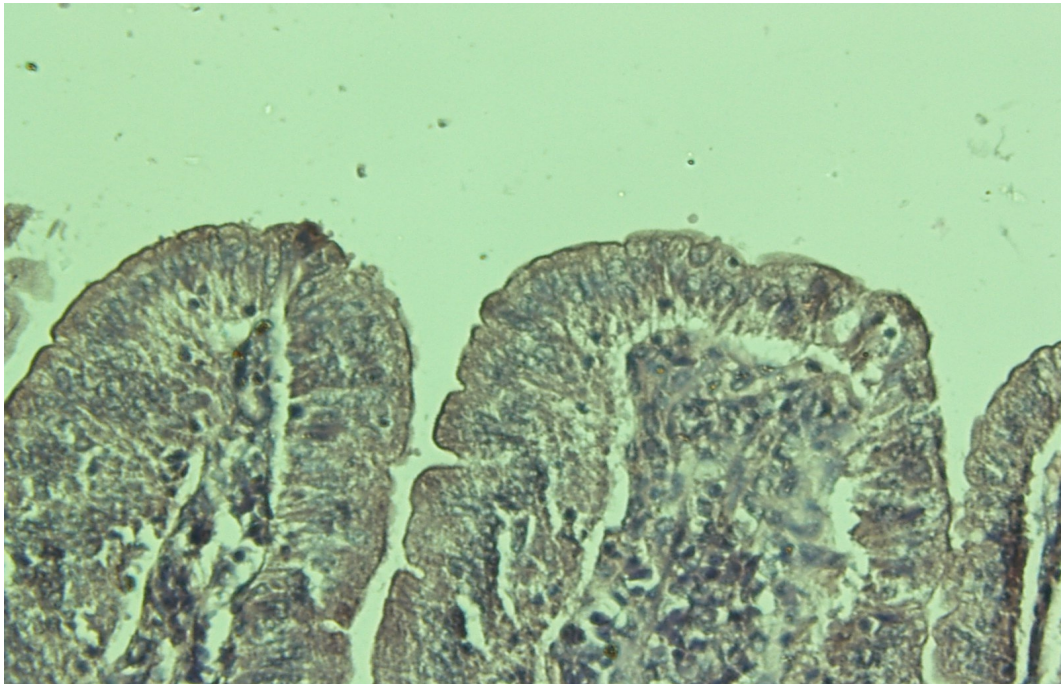
Tabel 4. Hasil uji statistik perbandingan antar kelompok (analisis post hoc)

Kelompok	K	P1	P2	P3	P4
K	-	0,960	0,467	0,033*	0,001*
P1	0,960	-	0,848	0,125	0,002*
P2	0,467	0,848	-	0,567	0,016*
P3	0,033*	0,125	0,567	-	0,294

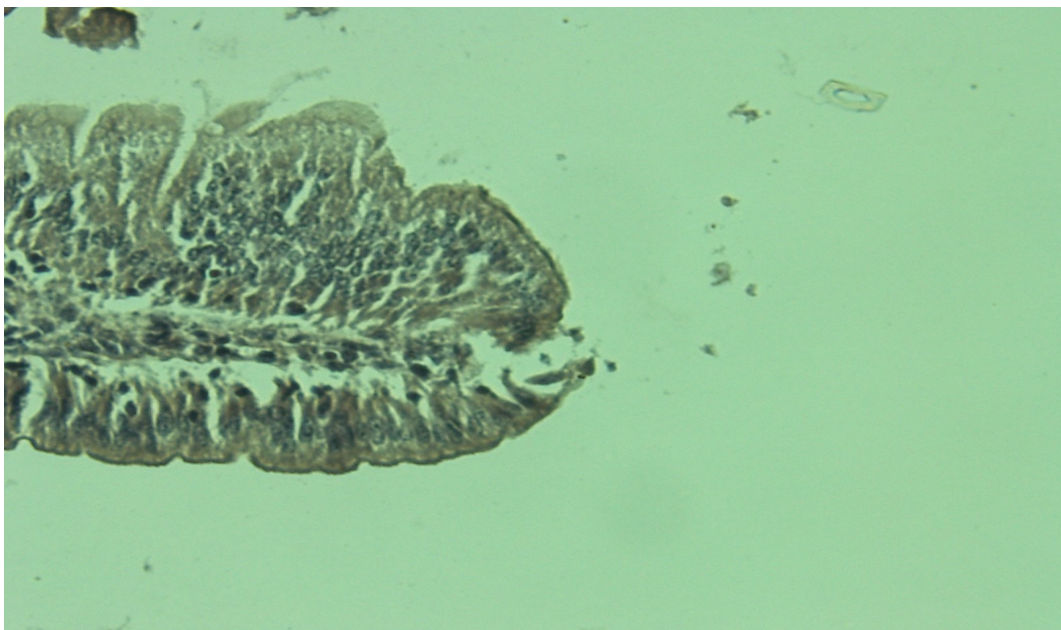
*Hasil analisis post hoc bermakna jika $p<0,05$

Dari analisis post hoc, diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan perlakuan 3 ($p=0,033$), kontrol dengan perlakuan 4 ($p=0,001$), perlakuan 1 dengan perlakuan 4 ($p=0,002$), dan perlakuan 2 dengan perlakuan 4 ($p=0,016$).

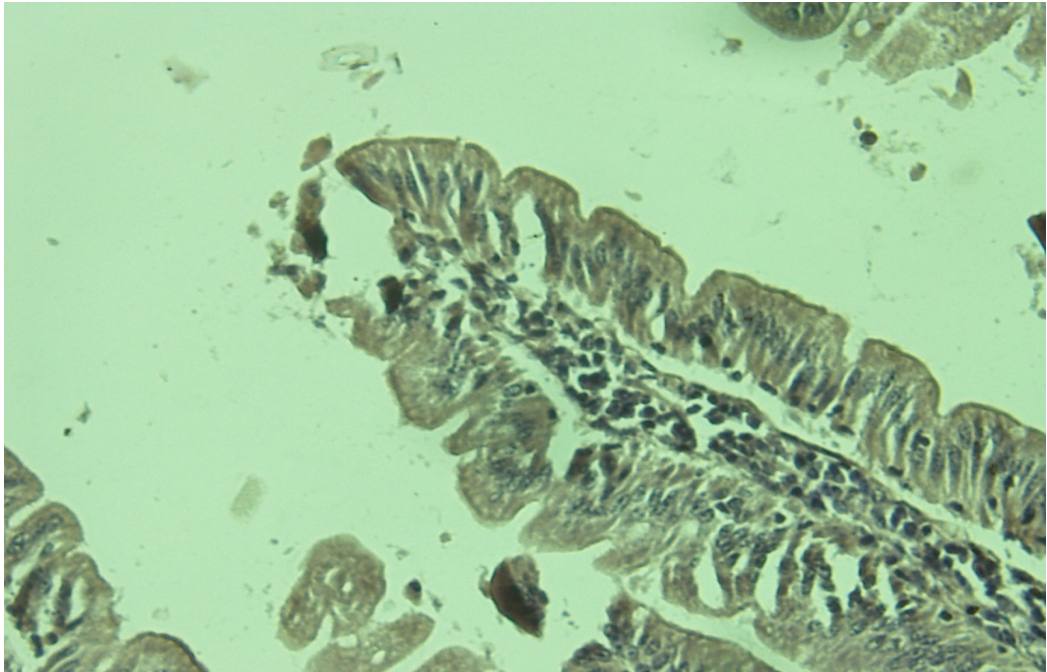
Gambaran histopatologi epitel mukosa duodenum normal, adanya deskuamasi epitel, erosi, dan ulserasi diilustrasikan pada gambar 2 sampai gambar 5.



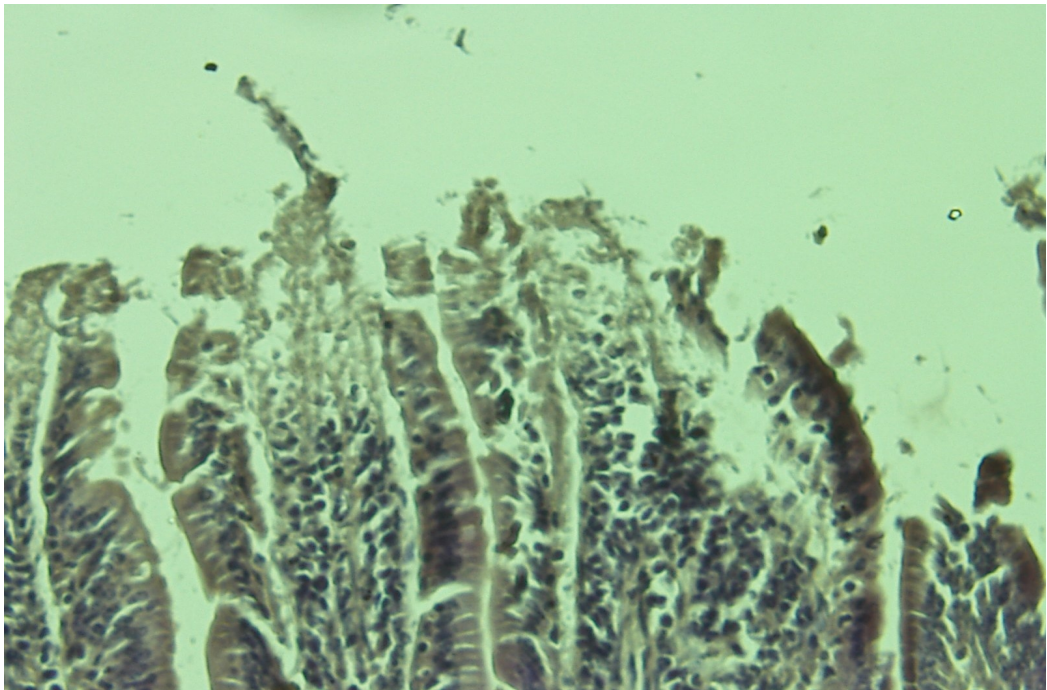
Gambar 2. Skor 1 : epitel mukosa duodenum normal (400x)



Gambar 3. Skor 2: deskuamasi epitel mukosa duodenum (400x)



Gambar 4. Skor 3: erosi epitel mukosa duodenum (400x)



Gambar 5. Skor 4: ulserasi epitel mukosa duodenum (400x)

PEMBAHASAN

Uji statistik terhadap gambaran histopatologi integritas epitel mukosa duodenum menunjukkan adanya perbedaan efek terhadap integritas epitel seiring dengan tingkatan dosis biopigmen karotenoid yang diberikan. Perbedaan bermakna terhadap kelompok kontrol dapat dilihat pada kelompok 3 dan kelompok 4.

Obat yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami proses absorpsi, metabolisme, distribusi, dan ekskresi.⁸ Banyak bahan yang potensial toksik masuk ke dalam tubuh melalui traktus gastrointestinal (usus). Usus halus memiliki epitel khusus yang mempunyai daerah permukaan yang luas. Struktur yang seperti villi pada mukosa dapat mengoptimalkan absorpsi, baik di bawah kendali aktif maupun pasif.⁹

Kerusakan pada traktus gastrointestinal terjadi bila ada gangguan keseimbangan antara faktor defensif yang menjaga keutuhan mukosa dan faktor agresif yang merusak pertahanan mukosa. Bisa faktor agresif yang meningkat atau faktor defensif yang menurun.¹¹ Kandungan karotenoid bisa menjadi faktor agresif sehingga menimbulkan efek samping hingga toksik. Pathogenesis tersering timbulnya efek toksik dari karotenoid adalah terjadinya iritasi pada mukosa.

Penelitian ini dilakukan berdasarkan pertimbangan masih minimnya uji toksisitas biopigmen karotenoid dan untuk mengidentifikasi kandungan biopigmen yang dihasilkan oleh invertebrata laut, Salah satu senyawa yang terkandung dalam karotenoid adalah tannin.

Tannin merupakan senyawa yang terkandung di dalam antioksidan seperti karotenoid. Bila melewati membran mukosa traktus gastrointestinal, tannin akan bereaksi dan berikatan dengan protein pada mukus dan sel epitel mukosa. Proses ini disebut astringensi. Proses astringensi menyebabkan mukosa akan mengikat lebih kuat dan menjadi kurang permeable.⁴ Dosis tinggi tannin akan menyebabkan astringensi berlebihan sehingga berpotensi menyebabkan iritasi mukosa.

Dosis tinggi tannin tidak hanya berikatan dengan protein tetapi mampu membentuk presipitasi dengan protein yang terdapat dalam mukus tersebut sehingga menyebabkan gangguan terhadap keutuhan membran sel, selain itu tannin mampu melakukan penetrasi melewati membran sel epitel mukosa. Tannin juga dapat mengurangi sekresi mukus yang merupakan barrier protektif.

Derajat beratnya iritasi, tergantung respon mukosa yang bervariasi dari deskuamasi sel permukaan, vasodilatasi dan edema lamina propria, sampai erosi dan perdarahan. Erosi merupakan daerah yang kehilangan sebagian mukosa, kebalikan dari ulserasi dimana yang hilang seluruh tebal mukosa.¹²

KESIMPULAN

Hasil perhitungan skor integritas epitel mukosa duodenum berdasarkan modifikasi kriteria Barthel Manja pada kelompok kontrol menunjukkan perubahan dari deskuamasi epitel hingga terjadi erosi, sedangkan pada kelompok perlakuan menunjukkan perubahan patologis sesuai tingkatan dosis yang diberikan. Semakin tinggi dosis yang diberikan, semakin tinggi tingkat kerusakan epitel yaitu sampai terjadinya ulserasi.

SARAN

1. Dibutuhkan adanya sikap kehati-hatian dalam mengkonsumsi biopigmen karotenoid jika diberikan pada dosis tinggi, terutama pada pasien dengan kondisi ulserasi atau inflamasi dari traktus gastrointestinal.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk meneliti potensi toksisitas subkronis dan kronis dari biopigmen karotenoid dengan jumlah hewan coba yang lebih banyak dan rentang dosis yang lebih bervariasi

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan puji syukur yang tak terhingga kepada Allah SWT, atas segala kemudahan yang diberikan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan artikel karya tulis ilmiah ini. Tak lupa penulis ucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada keluarga tercinta, kepada yang terhormat dr. Noor Wijayahadi, M.Kes, PhD selaku dosen pembimbing, dr. Ika Pawitra Miranti, M.kes, SpPA sebagai reviewer proposal. Laboratorium terpadu Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro sebagai penyedia sediaan yang akan diujikan, seluruh staf di Bagian Farmakologi dan Terapi, staf Laboratorium Histologi, dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, teman-teman satu kelompok penelitian, dan pihak-pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonymous. Tannins: toxic and antinutritional effects. [on line] 2003 [cited 2007 Des 5]. Available from: [URL:http://www.nbcec.org/plants/toxicagents/tannin/toxiceffect.html](http://www.nbcec.org/plants/toxicagents/tannin/toxiceffect.html).
2. Barthel M, Hapfelmeier S, Quintanilla-Martinez L, Kremer M, Rohde M, Hogardt M, et al. Pretreatment of mice with streptomycin provides a *Salmonella enterica* serovar typhimurium colitis model that allows analysis of both pathogen and host.
3. Cannas A. Tannins: fascinating but sometimes dangerous molecules. [homepage on the internet] c2008 [cited 2009 Feb 7]. Available from <http://www.nbcec.org/plants/tannin.html>
4. Ganiswara SG, Setiabudy R, Suyatna FD, Purwastyastuti, Nafrialdi, editor. Farmakologi dan terapi. Edisi 4. Jakarta: Gaya Baru; 1995.
5. Hendri. Biopotensi bakteri sebagai sumber listrik [homepage on the internet]. c2008 [cited 2011 Jan 15]. Available from: <http://hendriworld.wordpress.com/2008/06/19/biopotensi-bakteri-laut-sebagai-sumber-listrik/>
6. <http://iai.asm.org/cgi/content/full/71/5/2839>.
7. Mills S, Bone K. Principles and practice of phytotherapy: modern herbal medicine. London: Churchill Livingstone; 2000.
8. Robbins SL, Kumar V. Buku ajar patologi I. Edisi 4. Jakarta: ECG; 1995.
9. Tarigan P. Tukak Gaster. Dalam: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, editor. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Jilid I. Edisi

4. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2006. P. 338.
10. Underwood JCE. Patologi umum dan sistemik. Volume 2. Edisi 2. Alih Bahasa: Sarjadi. Jakarta: EGC; 1999.
11. Welly M. Indonesia pusat terumbu karang dunia [homepage on the internet]. c2008 [cited 2011 Jan 15]. Available from: <http://netsains.com/2008/10/indonesia-pusat-terumbu-karang-dunia/>
12. Wisaksono S. Efek toksik dan cara menentukan toksisitas bahan kimia. Cermin Dunia Kedokteran 2002; 135: 32-4
13. Wusqy NK. Melirik potensi pigmen warna dari bakteri laut [homepage on the internet]. c2008 [cited 2011 Jan 15]. Available from: <http://www.foodreview.biz/login/preview.php?view&id=55805>