

Potensi Ekstrak Beluntas (*Pluchea indica* Less) sebagai Upaya Preventif Gangguan Akibat Paparan Timbal (Pb) pada Berbagai Organ Tikus (*Rattus norvegicus*)

The Potency of *Pluchea indica* Less as Preventive Effort to Lead (Pb) Perturbation on Rats (*Rattus norvegicus*) Organs

Aulanni'am Aulanni'am^{1,2,3*}, Andri Julianto¹, Made Artari Dewi¹, Tri Cahyo Dirgahariyawan¹, Chanif Mahdi², Dyah Kinasih Wuragil^{1,3}, Herawati Herawati¹

¹Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya

²Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya

³Pusat Studi Biopeptida Perangkat Deteksi Medis dan Vaksin (BIODET-Vaksin), Universitas Brawijaya

*E-mail : aulani@ub.ac.id / aulani.fkhub@gmail.com

ABSTRAK

Timbal (Pb) merupakan salah satu logam berat pencemar lingkungan yang berbahaya bagi organisme. Akumulasi Pb memicu timbulnya radikal bebas dan mengganggu metabolisme tubuh. Ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica*) dilaporkan memiliki kandungan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan untuk dapat menangkal serangan radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui peranan terapi preventif ekstrak daun beluntas dalam menangkal radikal bebas akibat paparan Pb pada tikus (*Rattus norvegicus*). Tikus jantan strain Wistar usia 8-10 minggu dengan berat badan sekitar 200-250 gram. Tikus dibagi dalam 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok A sebagai kontrol negatif, kelompok B sebagai kontrol positif yang diinduksi Plumbum (Pb) 10 mg/ekor/hari, kelompok C,D,E adalah kelompok yang mendapat ekstrak etanol daun beluntas 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB, dan 600 mg/kgBB serta paparan timbal (Pb) 10 mg/ekor/hari. Histopatologi ginjal, hepar dan jejunum menggunakan pewarnaan HE diamati menggunakan mikroskop cahaya. Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak beluntas dapat mencegah kerusakan jaringan pada organ ginjal, hepar dan jejunum pada tikus yang dikenai paparan Pb. Pada dosis 600 mg/kgBB menunjukkan perbaikan histopatologi yang baik ginjal, hepar dan jejunum. Semakin besar dosis yang diberikan, pencegahan terhadap kerusakan jaringan semakin baik yang ditunjukkan dengan kondisi jaringan menyerupai pada tikus kontrol. Kesimpulan dari penelitian ini, ekstrak daun beluntas berpotensi mencegah gangguan organ yang terpapar timbal.

Kata kunci: Timbal (Pb), ekstrak beluntas (*Plucheria indica*), ginjal, hepar, jejunum

ABSTRACT

Lead (Pb) is one of the heavy metals polluting the environment which is harmful to the organism. Pb accumulation triggers free radicals and disrupts the body's metabolism. *Pluchea indica* leaf extract is reported contain flavonoids which act as antioxidants and can counteract free radical attacks. The purpose of this study was to determine the role of *Pluchea indica* leaf extract preventive therapy in counteracting free radicals due to exposure to Pb in rats (*Rattus norvegicus*). Wistar male rats aged of 8-10 weeks with a body weight of about 200-250 grams. Rats were divided into 5 treatment groups, were group A as negative control, group B as positive control induced by lead (Pb) 10 mg/rat/day, groups C,D,E given with ethanolic extract of *Pluchea indica* leaves of 200 mg/kgBW, 400 mg/kgBW, and 600 mg/kgBW and lead (Pb) exposure of 10mg/ rat/day. Kidney, liver and jejunal histopathology using HE staining was observed microscopically. The results showed that the administration of *Pluchea indica* leaves extract could prevent tissue damage to the kidney, liver and jejunum in rats exposed to Pb. Dose of 600 mg/kgBW showed histopathological improvement in kidney, liver and jejunum. The greater the dose, the better prevention of tissue damage as indicated by tissue conditions resembling

those of control rats. The conclusion of this study, the *Pluchea indica* leaf extract has the potential to prevent organ damaged exposed to lead.

Keywords: lead (Pb), *Plucheria indica*, kidney, liver, jejunum

PENDAHULUAN

Pencemaran timbal (Pb) pada lingkungan dilaporkan telah menjadi permasalahan yang kompleks di berbagai negara. Selain kerusakan lingkungan, keberadaan Pb di lingkungan mempengaruhi keberadaan organisme yang tinggal di dalamnya. Timbal (Pb) masuk ke dalam tubuh organisme melalui mulut (oral), inhalasi udara dan melalui permukaan kulit. Dalam tubuh, Pb bersifat sebagai radikal bebas setelah bereaksi dengan oksigen, dapat merusak jaringan karena berikatan dengan eritrosit dan menghambat metabolisme enzim sulfhydryl yang berperan dalam sintesis hemoglobin (Ardyanto, 2005). Di sisi lain, radikal bebas akan menyerang makromolekul penting, seperti DNA, protein, karbohidrat, dan lipid sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel dan gangguan homeostasis (Lobo *et. al.*, 2010).

Beluntas (*Pluchea indica* Less) merupakan salah satu tanaman asli Indonesia yang telah banyak dikembangkan menjadi tanaman obat. Tanaman ini diketahui mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan minyak atsiri (Andarwulan, 2010). Menurut Traithip (2005), flavonoid dalam daun beluntas bersifat sebagai antioksidan karena merupakan salah satu turunan senyawa polifenol. Antioksidan mampu menetralkan radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan sel dan jaringan dalam tubuh.

MATERI DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : kandang tikus, tempat makan, botol minum, sonde lambung, papan bedah, dissecting set, spuit 3 mL, spuit 1 mL, mikropipet, mikrotube, timbangan digital, blender, *soxhlet*, *rotary evaporator*, *water bath*, seperangkat *glassware*, *object glass*, *cover glass*, *pot sample*, *hot plate*, mikroskop, microtome.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar umur 8 – 10 minggu, berat badan 180-200 g, sekam halus, ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* Less), Timbal asetat trihydrate $[Pb(C_2H_3O_2)_2 \cdot 3H_2O]$, aquades, minyak jagung, Natrium chlorida (NaCl) 0,9%, Paraformaldehide (PFA) 4%, alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, 100%, xylol I, xylol II, xylol III, parafin cair, Hematoxylin, Eosin.

Prosedur Penelitian

Perlakuan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar, dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok A (kontrol negatif), kelompok B (Kontrol positif), kelompok C, D dan E merupakan kelompok dengan terapi ekstrak daun beluntas dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB). Hewan coba didapatkan dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Gajah Mada (UPHP UGM) umur 8-10 minggu dengan berat badan 180-200 gram. Penggunaan hewan coba

dalam penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya (No 320-KEP-UB).

Tata Laksana Induksi Timbal (Pb)

Timbal (Pb) yang digunakan adalah Plumbum asetat trihydrate [$\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$], dengan dosis 10 mg/kgBB yang di encerkan kedalam aquades 1 mL/ekor dan diberikan selama 14 hari melalui sonde lambung.

Persiapan ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less)

Daun beluntas di cuci bersih, dikeringkan pada suhu 60 °C selama 2 jam, dihaluskan hingga menjadi serbuk halus. Serbuk daun beluntas direndam dengan etanol 96% pada suhu 27 °C selama 3 x 24 jam. Di saring menggunakan kertas saring, ampas yang didapatkan selanjutnya dimaserasi, filtrat yang didapatkan dibiarkan selama 1 hari dan dipisahkan dari endapannya kemudian diuapkan *Rotary Vacuum Evaporator* pada suhu 70 °C. Kemudian di dapatkan ekstrak etanol daun beluntas.

Persiapan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less)

Ekstrak etanol yang didapatkan di timbang sesuai dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, 600 mg/kgBB. Kemudian diencerkan dengan aquades dan minyak jagung dengan rasio 1:9, sehingga didapatkan 1 mL ekstrak etanol daun beluntas tiap dosis dan diberikan secara sonde lambung pada kelompok masing-masing kelompok terapi selama 28 hari.

Pembuatan Preparat Histopatologi

Jaringan ginjal, hepar dan jejunum diisolasi dan dibuat preparat dengan metode pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) (Junquiera, 2007).

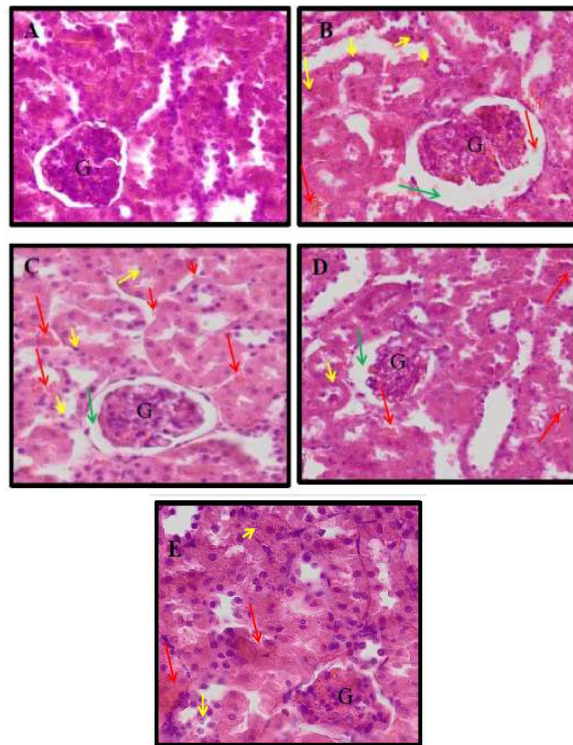
HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran histopatologi ginjal dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE) menggunakan perbesaran 400x untuk mengetahui perubahan pada struktur glomerulus, hemorragie dan kongesti (**Gambar 1**). Histopatologi ginjal pada kelompok tikus kontrol menunjukkan kondisi ginjal normal, terdiri atas glomerulus yang dikelilingi kapsula Bowman, tubulus proksimal dan distal (**Gambar1.A**) dibandingkan pada kelompok tikus induksi Pb (**Gambar1.B**). Histopatologi ginjal menunjukkan terjadinya pelebaran kapsula Bowman pada glomerulus, adanya hemorragie dan nekrosis sel. Timbal (Pb) merupakan radikal bebas yang apabila masuk ke dalam tubuh akan menjadi sumber *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan bersifat sebagai kompetitor antioksidan enzimatis dalam tubuh. ROS merupakan radikal bebas yang berada dalam tubuh yang terdiri atas satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan sehingga tidak stabil dan reaktif. Untuk menstabilkan kondisinya maka ROS akan mengoksidasi organ yang dikenal dengan keadaan stres oksidatif yang memicu terjadinya peroksidasi lipid, yaitu suatu proses dimana radikal bebas yang bersifat lipofilik merusak membran sel yang terdiri atas *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Kerusakan membran sel memicu terjadinya oksidasi asam amino yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas membran, dengan hilangnya potensial membran maka reaksi seluler tidak berjalan sebagaimana mestinya dan menyebabkan degenerasi sel yang memicu kematian sel (Allen,2000).

Pada histopatologi ginjal tikus pada kelompok yang diberi terapi preventif ekstrak etanol menunjukkan bahwa masih terlihat pelebaran pada kapsula Bowman, hemorragie dan nekrosis. Pada pemberian terapi preventif menggunakan dosis

ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* Less) sebesar 400 mg/kgBB (**Gambar 1.D**) masih menunjukkan

adanya pelebaran pada kapsula bowman, nekrosis dan hemorragie sudah mulai berkurang.



Gambar 1. Histopatologi ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan pewarnaan Hematoxylene Eosin (400x)

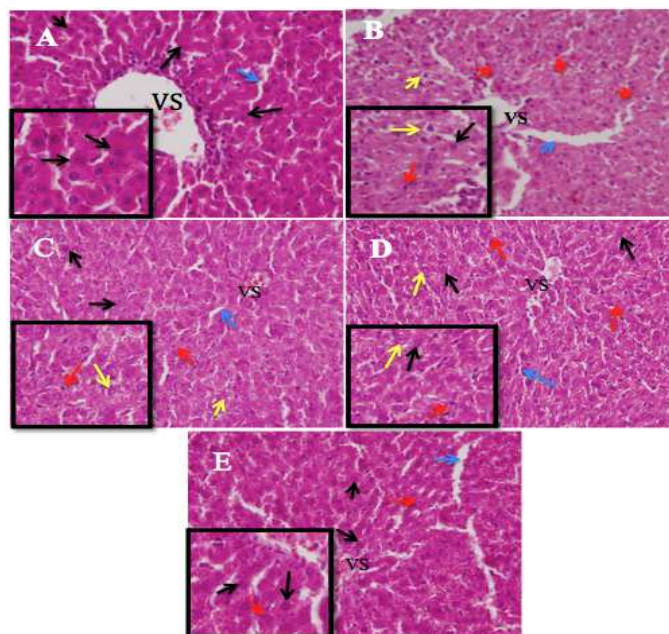
Keterangan: (A) Kontrol; (B) Induksi timbal (Pb); (C) dosis 200 mg/kg; BB; (D) Dosis 400 mg/BB; (E) Dosis 600 mg/kgBB; G : glomerulus; panah merah; panah hijau: pelebaran kapsula Bowman; panah kuning : nekrosis

Kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less) dosis 600 mg/kg BB (**Gambar 1.E**) terlihat mengalami perbaikan yang lebih baik dibandingkan kelompok sebelumnya. Hal ini ditunjukkan dengan berkurangnya pelebaran kapsula bowman, berkurangnya hemorragie dan nekrosis. Pertahanan struktur ginjal tersebut diakibatkan kandungan flavonoid pada ekstrak etanol daun beluntas mampu memberikan satu atom hidrogen (H^+) kepada radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi lebih stabil dan menghambat terjadinya stres oksidatif serta menghambat terjadinya peroksidasi lipid dan degenerasi sel sehingga dapat mencegah kerusakan struktur ginjal akibat radikal bebas oleh

timbal (Pb). Kelompok tikus kontrol (**Gambar 2A**) menunjukkan inti sel hepar yang berwarna ungu dan sitoplasma sel berwarna merah muda serta batas pada inti sel dan membran sel terlihat jelas menunjukkan kondisi normal dari sel hepar, dibandingkan pada kelompok Induksi Pb (**Gambar 2B**) didapatkan histopatologi hepar berupa kerusakan sel hepar, kerusakan sel hepar dapat ditandai dengan terjadinya degenerasi dan nekrosis inti sel. **Gambar 2B** didapatkan banyak sel hepatosit yang memiliki kondisi degenerasi dan nekrosis pada inti sel dimana nekrosis yang ditunjukkan merupakan nekrosis piknotik dan degenerasi hidrofik. Kelompok yang diberi terapi preventif ekstrak etanol daun

Beluntas (*Pluchea indica less*) dosis 200 mg/kgBB (**Gambar 2C**), menunjukkan masih terlihat sel hepar yang normal meskipun tidak berbeda nyata terhadap kelompok kontrol positif yang ditunjukkan kelompok pada **Gambar 2B** yang hanya diberi induksi Pb sebesar 10 mg/kgBB, degenerasi dan nekrosis sel banyak terlihat jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (**Gambar 2A**). Pada kelompok perlakuan yang hanya diinduksi Pb 10 mg/kgBB banyak terlihat degenerasi hidrofik dan nekrosis piknotik yang tersebar luas dalam satu lobulus hepar, selain itu terlihat sinusoid yang mengalami pelebaran. Terjadinya nekrosis sel hepar, dapat diketahui dengan adanya perubahan pada sitoplasma dan inti selnya, saat membran plasma sel rusak, berbagai enzim dan sitosol akan dilepas ke dalam darah dan ini dapat dijadikan penanda kuantitatif terhadap luas dan tipe kerusakan sel hepar. Kerusakan sel hepar akibat pemberian timba l(Pb), pertama

kali yang terjadi adalah terjadinya kerusakan pada membran sel, terutama kerusakan pada asam lemak tak jenuh yang merupakan komponen penting penyusun membran sel dihancurkan oleh radikal hidroksil (OH), hal ini menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan peroksidasi lipid, akhir dari reaksi rantai ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi aldehid yang toksik terhadap sel, sehingga mengakibatkan kerusakan membran sel dan organela secara luas. (Grattagliano *et. al.*, 2009). Pada pemberian terapi dengan menggunakan dosis ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica less*) sebesar 400 mg/kgBB (**Gambar 2D**) mulai terlihat memberikan penurunan kerusakan sel namun tidak jauh berbeda dengan kelompok tikus yang diberi ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica less*) dosis 200 mg/kgBB (**Gambar 2C**) akan tetapi lebih baik dari pada histopatologi yang terlihat pada kelompok kontrol positif.

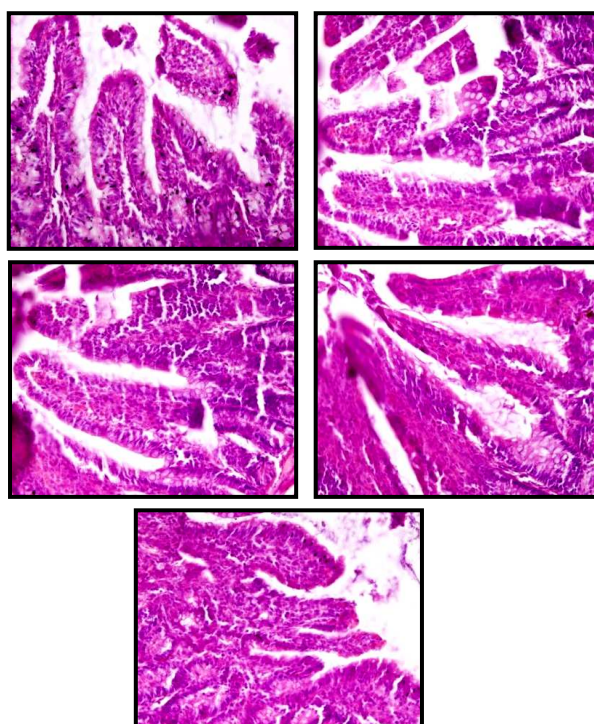


Gambar 2. Histopatologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan pewarnaan Hematoxylene Eosin (400x)

Keterangan: (A) Kontrol; (B) Induksi timbal (Pb); (C) dosis 200 mg/kg; BB; (D) Dosis 400 mg/BB; (E) Dosis 600 mg/kgBB; VS : Vena sentralis; panah hitam : sel hepar normal; panah biru:sinusoid ; panah kuning: degenerasi hidrofilik; panah merah : nekrosis sel

Pemberian ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica less*) dosis 600 mg/kgBB (**Gambar 2E**) menunjukkan perubahan histopatologi yang lebih baik dari **Gambar 2B, 2C** dan **2D**. Perubahan histologi pada kelompok terapi preventif pemberian ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica less*) dosis 600 mg/kgBB banyak ditemukan sel-sel hepar normal. Kelompok kontrol (**Gambar 3A**) menunjukkan gambaran histologi jejunum tikus putih tanpa diberi terapi preventif ekstrak etanol daun beluntas dan induksi

Pb. Tunika mukosa jejunum yang terdiri atas vili intestinalis, lamina propia, serta sel epitel silindris selapis yang disertai dengan sel goblet. Kondisi toksisitas Pb pada tikus menyebabkan perubahan histopatologi pada jejunum karena pemberian Pb secara per oral sehingga masuk ke dalam saluran pencernaan. Histopatologi yang terjadi berupa adanya hemoragik pada daerah mukosa jejunum, sel goblet yang membesar dan terjadi erosi sel pada mukosa usus (**Gambar 3B**).



Gambar 3. Histopatologi Jejunum Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan pewarnaan Hematoxyline Eosin (400x)

Keterangan: (A) Kontrol; (B) Induksi timbal (Pb); (C) dosis 200 mg/kg; BB; (D) Dosis 400 mg/BB; (E) Dosis 600 mg/kgBB; VS : Vena sentralis; panah hitam : sel hepar normal; panah biru:sinusoid ; panah kuning: degenerasi hidrofilik; panah merah : nekrosis sel.

Kondisi hemoragik dapat disebabkan karena sel epitelium permukaan jejunum langsung bersentuhan dengan substansi toksin yang terabsorpsi. Di dalam lamina propia terdapat limfosit dan sel-sel radang. Hemoragik ini disebabkan oleh eritrosit pada dinding kapiler masuk ke

dalam jaringan, kemudian eritrosit keluar dari pembuluh darah yang terdorong oleh tekanan darah melalui dinding kapiler yang cedera, maka eritrosit yang keluar dari pembuluh tampak seperti adanya infiltrasi eritrosit di dalam jaringan (Gunstream and Harold, 2001). Erosi

menggambarkan hilangnya epitel usus tanpa disertai hilangnya muskularis mukosa. Terjadinya kerusakan pada tunika mukosa jejunum dapat disebabkan karena induksi Pb. Jejunum merupakan bagian dari usus halus yang berfungsi sebagai absorpsi nutrisimakanan melalui proses enzimatis pencernaan. Usus halus mempunyai bentukan berupa vili yang berfungsi untuk meningkatkan luas permukaan usus dan membantu dalam penyerapan nutrisi tubuh. Kerusakan vili usus dapat menyebabkan zat tidak terserap di dalam usus halus. Hal ini dapat terjadi sebagai akibat adanya zat toksik sebagai salah satu xenobiotik yang dapat mengganggu proses penyerapan makanan (Natalia, 2007). Senyawa toksik yang ditimbulkan akibat adanya Pb akan menghasilkan radikal bebas dimana radikal bebas dapat menghasilkan suatu senyawa oksigen reaktif (ROS). Senyawa ROS akan sangat berbahaya karena akan merusak sel. Salah satu senyawa ROS yang paling berbahaya adalah radikal hidroksil dimana akan memberikan dampak negatif terhadap membran sel.

Radikal hidroksil dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan peroksidasi lipid. Kerusakan sel pada bagian jejunum akibat peroksidasi lipid menyebabkan lapisan mukosa usus tidak dapat menyerap nutrisi makanan yang masuk sehingga metabolisme dalam tubuh terganggu (Hariono, 2006).

Kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun beluntas dosis 200 mg/kg BB menunjukkan adanya hemoragik pada lamina propia dan masih terjadi erosi pada epitel mukosa usus (**Gambar 3C**). Pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun beluntas dosis 400 mg/kg BB masih terlihat adanya hemoragik pada lamina propia (**Gambar 3D**). Kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun beluntas dosis 600 mg/kg BB terlihat mengalami perbaikan yang lebih baik dibandingkan kelompok sebelumnya. Hal

ini ditunjukkan dengan tidak terjadinya kerusakan vili usus dan berkurangnya gambaran hemoragik dan erosi sel pada mukosa usus (**Gambar 3E**). Hal ini dapat disebabkan karena adanya pengaruh dari antioksidan yang terkandung dalam ekstrak daun beluntas. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada dosis terapi preventif 600 mg/kg BB mampu mempertahankan gambaran histopatologi jejunum tikus putih yang ditunjukkan dengan keadaan struktur vili yang lebih baik dibandingkan dengan dosis terapi preventif 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB.

Ekstrak daun beluntas yang mengandung senyawa flavonoid yang bertindak sebagai antioksidan yang mampu menyeimbangkan radikal bebas. Menurut Sharma and Naveen (2011), flavonoid dapat mencegah pembentukan radikal bebas melalui penguraian senyawa non radikal seperti H_2O_2 dan menangkap radikal oksigen yang dilepaskan oleh peroksida. Flavonoid mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas semakin berkurang. Penurunan radikal bebas juga dapat mencegah kerusakan sel yang lebih parah sehingga kerja antioksidan eksogen dapat diimbangi dengan antioksidan endogen dalam mencegah akumulasi zat toksik dalam tubuh (Bowler and Crapo, 2002).

Hasil analisis dengan *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LCMS) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun beluntas mengandung senyawa kuersetin yang berfungsi sebagai antioksidan. Kuersetin merupakan antioksidan eksogen yang dapat menyeimbangkan dan mencegah penurunan aktivitas SOD atau antioksidan endogen dalam tubuh, sehingga dapat mengurangi terjadinya kerusakan pada vili usus serta hemoragik pada jejunum tikus

kondisi terinduksi Pb yang dapat dilihat dalam gambaran histopatologi. Hal ini membuktikan bahwa terapi ekstrak etanol daun beluntas dosis 600 mg/kg BB mampu mempertahankan struktur jaringan pada vili jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi timbal.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak beluntas (*Pluchea indica*) menunjukkan perubahan dan perbaikan struktur histopatologi yang mengalami gangguan akibat induksi timbal yaitu ginjal, hepar dan jejunum. Semakin besar dosis pemberian ekstrak beluntas, semakin baik perubahan yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N. 2010. *Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia*. Food Chemistry, 121, hal 1231–1235.
- Ardyanto, D. 2005. *Deteksi Pencemaran Timah Hitam (Pb) dalam Darah Masyarakat yang Terpajan Timbal (Plumbum)*. Jurnal Kesehatan Lingkungan, Vol. 2, No. 1, p: 67–76.
- Bowler, R.P., and J.D. Crapo. 2002. *Oxidative Stress in Airways*. J. Respir. Crit. Care Med. 166: S38– S43.
- Grattagliano, I. L, Bonfrate. C.V, Diogo. H.H, Wang. D.Q.H, Wang. and P, Portincasa. 2009. *Biochemical Mechanism in Drug-Induced Liver Injury: Certainties and Doubts*. Word Journal Gastroenterology. 15(39): 4865-4876.
- Gunstream, S.E and Harold, S.B. 2001. *Anatomy and Phvsiology:Laboratory Text BookEssentialVersion Triht Edision*. American: Mc.Graw Hill. New York.
- Hariono, B. 2006. *Efek Pemberian Plumbum (Timah Hitam) Organik Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. Journal Sains Veteriner 24 (1): 125 – 133.
- Junqueira, L.C. 2007. *Histology Dasar: Teks dan Atlas Edisi 10*. Jakarta : EGC, Jakarta.
- Natalia, Mariani. 2007. *Pengaruh Plumbum (Pb) Terhadap Struktur Insang Ikan Mas (Cyprinus carpio, L.)*. Jurnal Perikanan dan Kelautan 12 (1): 42 – 47.
- Sharma, S.K. and Naveen, G. 2011. *Biological Studies of the Plants from Genus Pluchea*. Annals of Biological Research, 2 (3): 25 – 34. India: Department of Pharmaceuical Sciences.
- Traithip, A. 2005. *Phytochemistry and antioxidant activity of Pluchea indica*. Thailand: Mahidol University.