

**Efek Pemberian Estrogen Sintetis (Diethylstilbestrol) terhadap
Struktur Hepar dan Kadar SGOT dan SGPT pada
Mencit (*Mus musculus*) Betina Strain Balb'C**

***The Effect of Synthetic Estrogen on Hepar Structure
And Level of SGOT and SGPT of Balb'C Female Mice (UMus musculus)***

Susantin Fajariyah, Eva Tyas Utami, Yunita Arisandi
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember

ABSTRACT

The objectives of this study were to observe the effect of synthetic estrogen (diethylstilbestrol/DES) on hepar structure and level of SGOT as well as SGPT of female mice (*Mus musculus*). Mice were gavage by DES dose 0.084 µg/g bb, 0.168 µg/g bb, 0.336 µg/g body weight, sesame oil and control. DES was treated by gavage for 15 days. Observation were performed liver structure contain of number of normal hepatocyte, and hepatocyte disruption (picnosis, vacuole cell, and necrosis), also SGOT-SGPT level. The result showed that DES effected to the disruption of hepatocyte particularly necrosis was relativity high in 0,168 µg/g bb DES treatment. SGOT and SGPT level on blood increased after DES treatment.

Keywords: Synthetic estrogen, diethylstilbestrol (DES), hepar structure, SGOT, SGPT, mice

PENDAHULUAN

Estrogen merupakan senyawa steroid yang berfungsi terutama untuk perkembangan dan mempertahankan ciri-ciri kelamin wanita. Selain dalam bentuk alami, estrogen juga diperoleh dalam bentuk sintetis. Dewasa ini tersedia berbagai jenis estrogen sintetis yang dapat digunakan untuk menangani (terapi) berbagai jenis kelainan ginekologik, alat kontrasepsi, maupun sebagai pengganti hormon bagi wanita yang mengalami menopause. Beberapa jenis estrogen sintetis yang dikenal selama ini adalah Diethylstilbestrol (DES), Etynil Estradiol, Dienestrol, fosfestrol (Holland 2002).

Diethylstilbestrol (DES) merupakan estrogen sintetis non steroid yang potensi estrogeniknya cukup kuat. Pada awalnya DES digunakan untuk mengatasi *abortus imminens* (Achadiat 2003), namun hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan DES pada ibu hamil meningkatkan risiko kanker (*small cell carcinoma*) vagina pada bayi wanita yang dilahirkannya, disfungsi alat reproduksi, menurunnya fertilitas dan disfungsi sistem immune (Giusti *et al.* 1995). Walker & Haven (1997) dalam Newbold *et al.* (2006) menyatakan bahwa efek DES kemungkinan akan diturunkan pada generasi kedua bahkan ke generasi berikutnya. Menurut Dharmasaputra (2002) penggunaan DES dapat

menimbulkan efek, antara lain terkena kanker payudara, naiknya resiko kanker endometrium, stroke, penggumpalan darah, dan penyakit jantung pada wanita setelah menopause, sehingga DES secara klinis tidak digunakan lagi. Namun DES masih banyak digunakan dalam penelitian sebagai *model estrogenic endocrine disrupter* (Newbold *et al.* 2006)

Senyawa DES akan mengalami metabolisme di hepar yang merupakan tempat detoksifikasi. Jalur yang pertama yakni konversi dari *ortho*-hidroksilasi menjadi *metabolit catechol*. Metabolit utama DES pada beberapa spesies (tikus, mencit, primata, dan hamster) adalah dienestrol dan w-hidroksidienestrol yang terbentuk karena *katalisis peroksidase* (oksidasi) DES menjadi *quinon intermediat*. Perubahan *quinon* menjadi semiquinon akan menghasilkan superoksida yang dapat menyebabkan kerusakan DNA yang berujung pada kerusakan sel (Hudson *et al.* 2001). *Quinon intermediat* merupakan metabolit reaktif dari DES (Anonim 1979).

Adanya kerusakan sel-sel hati (hepar) dapat ditandai dengan kadar enzim SGOT (Serum Glutamat Oxaloasetate Transaminase) dan SGPT (Serum Glutamat Piruvate Transaminase) yang meningkat. SGOT-SGPT merupakan dua enzim transaminase yang dihasilkan oleh sel-sel hati (Gmikro 2006). Menurut Calbreath (1982), peningkatan SGOT dan SGPT mengindikasikan adanya kerusakan

sel-sel hepar dibandingkan dengan enzim hepar lainnya, karena kedua enzim ini meningkat terlebih dahulu dan meningkat drastis bila dibandingkan dengan enzim-enzim lain ketika terjadi kerusakan sel-sel hepar.

Penggunaan estrogen sintetik merupakan salah satu penyebab terjadinya kanker pada wanita termasuk kanker hati (Chen *et al.* 1999). Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini untuk mengkaji lebih lanjut mengenai pengaruh estrogen sintetik khususnya DES terhadap struktur hepar serta kadar SGOT dan SGPT pada mencit (*Mus musculus*) betina strain Balb C.

METODE

Mencit yang digunakan adalah mencit betina Strain Bab-C umur 8-9 minggu dengan berat badan sekitar 25 g. Senyawa yang akan diuji adalah DES (Sigma). Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan yaitu kontrol (tanpa diberi perlakuan), minyak wijen, dan DES dengan dosis 0,084 µg/g bb, 0,168 µg/g bb, 0,336 µg/g bb, yang diberikan secara *gavage* selama 15 hari. Pada hari ke 16 mencit dibedah kemudian darah diambil untuk pengukuran SGOT dan SGPT, dan hati diambil untuk dibuat preparat histologi dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoksin-Eosin (Suntoro 1983). Struktur hati yang diamati adalah hepatosit normal dan hepatosit yang mengalami kerusakan baik piknosis, sel bervakuola, dan nekrosis pada zona vena sentralis (sentrolobuler), zona sentrolobuler-periportal, dan zona periportal. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANAVA satu arah dilanjutkan dengan uji Duncan 1% (Arikunto 1998)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan preparat histologis hepar mencit (*Mus musculus L*) strain Balb-C setelah perlakuan DES selama 15 hari berturut-turut menunjukkan kerusakan pada hepatosit berupa piknosis, nekrosis dan sel bervakuola. Rata-rata jumlah hepatosit normal maupun yang mengalami kerusakan setelah perlakuan DES ditunjukkan pada Tabel 1.

Hasil uji Anava terhadap rata-rata jumlah hepatosit baik yang normal, piknosis, sel bervakuola maupun nekrosis diperoleh nilai $p(0,000) < 0,01$ ($\alpha=1\%$). Hal ini berarti DES berpengaruh terhadap rata-rata jumlah hepatosit baik yang normal, piknosis, sel bervakuola maupun nekrosis.

Berdasarkan hasil pengamatan, hepatosit normal mempunyai ciri-ciri: sel tersusun secara radier terhadap vena sentralis, bentuk sel bulat dan oval dan terdapat lempeng-lempeng hepatosit. Sel terlihat memiliki satu nukleus, namun ada juga yang memiliki lebih dari satu nucleus (binukleat) yang terdapat di tengah sel. Uji Duncan untuk rata-rata jumlah hepatosit normal, menunjukkan DES dosis 0,084 µg/g bb berpengaruh paling tinggi terhadap rata-rata jumlah hepatosit normal, diikuti oleh DES dosis 0,336 dan dosis 0,168 µg/g bb.

Hepatosit yang mengalami piknosis tampak menghitam, namun masih memiliki membran sel. Nukleus belum tampak terfragmentasi. Beberapa sel yang mengalami piknosis tampak lebih besar daripada hepatosit normal, namun ada juga yang mempunyai ukuran lebih kecil dari hepatosit normal. Hepatosit berbentuk bulat dengan kondisi sel yang masih tersusun secara radier. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ngabekti & Isnaeni (2000) yaitu piknosis atau pengerutan inti merupakan homogenisasi sitoplasma. Hepatosit yang mengalami piknosis ini tampak lebih gelap daripada hepatosit normal. Uji Duncan untuk rata-rata jumlah hepatosit yang mengalami piknosis, menunjukkan bahwa DES dosis 0,336 µg/g bb berpengaruh paling tinggi terhadap rata-rata jumlah hepatosit yang mengalami piknosis, diikuti oleh DES dosis 0,168 dan DES dosis 0,084 µg/g bb.

Karakteristik hepatosit yang mengalami vakuolisasi adalah volume hepatosit membesar, nukleus rata-rata hanya satu terletak ditengah sel, bagian sitoplasma hepatosit agak cekung tampak lebar dan berwarna putih. Hepatosit bervakuola ditemukan pada zona sentrolobuler yakni di sekitar daerah vena sentralis. Hepatosit yang mengalami vakuolisasi tidak sebanyak sel yang mengalami piknosis dan nekrosis. Hasil uji Duncan, menunjukkan bahwa DES dosis 0,336 berpengaruh paling tinggi terhadap rata-rata jumlah hepatosit yang mengalami vakuolisasi, diikuti oleh DES dosis 0,168 dan DES dosis 0,084 µg/g bb.

Selain kerusakan berupa piknosis dan sel bervakuola, hepatosit juga mengalami nekrosis. Kerusakan hepatosit berupa nekrosis ditandai dengan nukleus yang menghitam dan mengalami fragmentasi. Selain itu, hepatosit tampak semakin kecil dan mengkerut sehingga mempunyai bentuk yang tidak teratur.

Tabel 1. Rata-rata jumlah hepatosit normal dan hepatosit yang mengalami kerusakan pada lobulus hepar setelah perlakuan DES.

Dosis ($\mu\text{g/g}$ bb)	Jumlah Hepatosit ($X \pm \text{SD}$)			
	Normal	Piknosis	Sel vakuola	Nekrosis
Kontrol	60,31 \pm 19,27 ^c	0,38 \pm 1,14 ^a	0,06 \pm 0,38 ^a	0,71 \pm 2,14 ^a
Minyak wijen	61,79 \pm 23,24 ^c	1,02 \pm 1,86 ^b	0,23 \pm 0,90 ^a	5,27 \pm 5,54 ^b
DES 0,084	38,27 \pm 12,95 ^a	0,32 \pm 1,15 ^a	0,23 \pm 0,73 ^a	16,37 \pm 10,59 ^c
DES 0,168	44,58 \pm 15,71 ^{Pb}	0,59 \pm 1,36 ^{ab}	0,23 \pm 0,81 ^a	26,27 \pm 19,17 ^d
DES 0,336	41,14 \pm 15,38 ^{ab}	2,87 \pm 3,39 ^c	0,59 \pm 1,44 ^b	18,85 \pm 12,58 ^c

Keterangan: Superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata pada uji Duncan taraf 1%.

Dari hasil uji Duncan tampak bahwa pemberian DES dengan dosis 0,168 berpengaruh paling tinggi terhadap rata-rata jumlah hepatosit yang mengalami nekrosis, diikuti oleh pemberian DES dosis 0,336 dan 0,084 $\mu\text{g/g}$ bb. Struktur hepar normal dan yang mengalami kerusakan dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Senyawa DES mengalami metabolisme di hepar. Jalur yang pertama yakni konversi dari *ortho*-hidroksilasi menjadi *metabolit catechol*. Metabolit utama DES pada mencit adalah dienestrol dan w-hidroksidienestrol yang terbentuk karena *katalisis peroksidase* (oksidasi) DES menjadi *quinon intermediet*. Jalur yang lain adalah *epoksidasi* ikatan *double stilbene*, menghasilkan *4'-hidroksipropiofenon*. Baik *epoksid* maupun *quinon intermediet*, keduanya merupakan metabolit reaktif dari DES (Anonim 1979).

Selanjutnya *quinon* diubah menjadi *semiquinon* oleh ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang juga merupakan metabolit estrogen. Perubahan *quinon* menjadi *semiquinon* akan menghasilkan superoksida yang dapat menyebabkan kerusakan DNA yang berujung pada kerusakan sel (Hudson *et al.* 2001). Price dalam Irnawati *et al.* (2005) menjelaskan bahwa nekrosis hati merupakan suatu manifestasi toksik yang berbahaya.

Kerusakan hepatosit juga terkait dengan enzim-enzim mikrosom dalam sel. Jawi *et al.* (2006) menjelaskan bahwa peningkatan produksi radikal bebas (senyawa kimia) akibat induksi *myrosomal cytochrome P-450* dapat menimbulkan kerusakan pada hepatosit. Beberapa obat mampu meningkatkan aktivitas enzim mikrosom ini. Seperti diketahui DES merupakan senyawa toksik yang apabila masuk ke dalam tubuh akan diinduksi oleh enzim mikrosom dalam hepar.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa kerusakan hepatosit baik piknosis, sel bervakuola, maupun nekrosis merupakan manifestasi adanya efek metabolisme zat toksik dalam hal ini senyawa DES di dalam hepar.

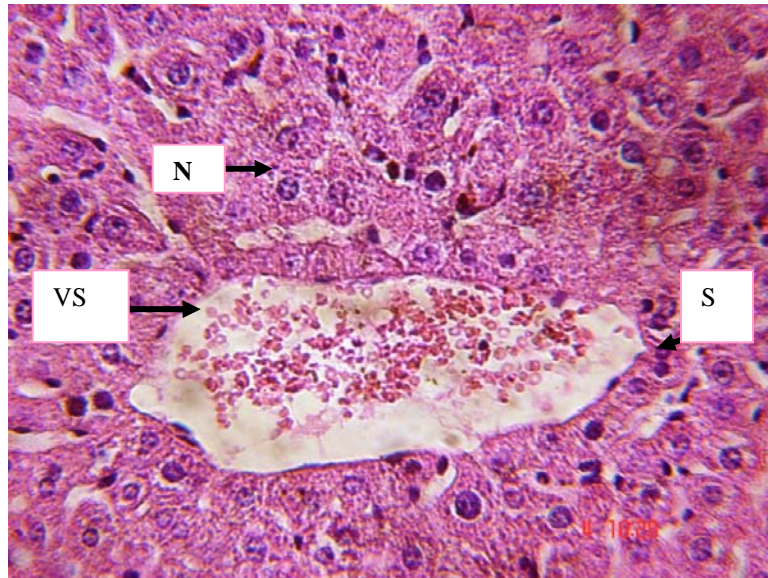
Kerusakan yang diakibatkan oleh pemberian diethylstilbestrol terlihat pada semua zona lobulus hepar, yaitu pada zona sentrolobuler, zona sentrolobuler-periportal, dan zona periportal. Pengaruh perlakuan DES terhadap rata-rata jumlah hepatosit normal dan hepatosit yang mengalami kerusakan pada zona lobulus hepar dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil analisis statistik menggunakan Anava untuk mengetahui pengaruh DES terhadap jumlah hepatosit normal dan hepatosit yang mengalami kerusakan diperoleh nilai $p = 0,000$ dengan $p < 0,01$. Hal ini menunjukkan bahwa DES berpengaruh terhadap jumlah hepatosit normal dan hepatosit yang mengalami kerusakan pada zona lobulus hepar.

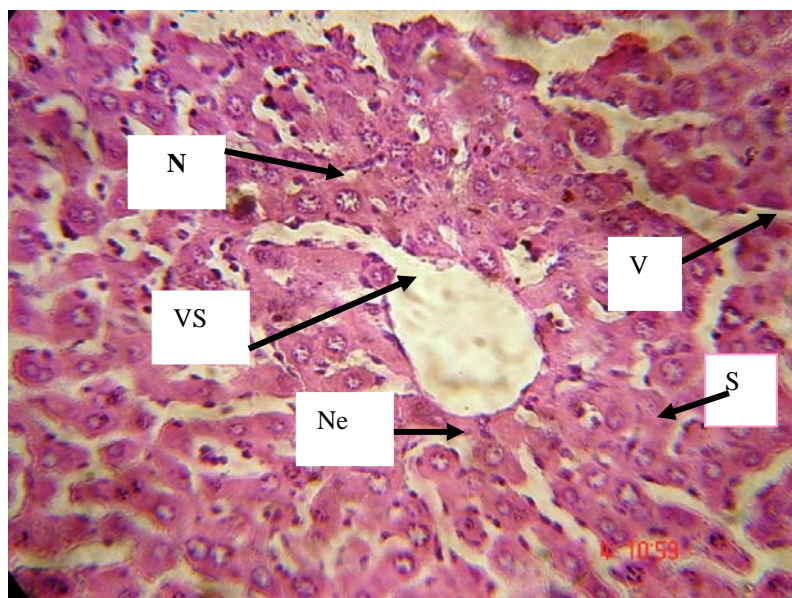
Uji Duncan menunjukkan adanya perbedaan jumlah hepatosit normal yang sangat nyata pada zona sentrolobuler, sentrolobuler-periportal, dan periportal. Sedangkan untuk uji Duncan untuk rerata jumlah hepatosit yang mengalami kerusakan menunjukkan, rerata jumlah hepatosit yang mengalami kerusakan pada zona sentrolobuler tidak berbeda sangat nyata dengan kerusakan hepatosit pada zona sentrolobuler-periportal. Namun demikian, rerata hepatosit yang mengalami kerusakan pada kedua zona tersebut berbeda sangat nyata dengan rerata hepatosit yang rusak pada zona periportal. Kerusakan hepatosit yang paling tinggi terjadi pada zona sentrolobuler. Zona sentrolobuler merupakan daerah pada lobulus hepar yang paling dekat dengan vena sentralis. Kerusakan hepatosit yang tinggi pada zona ini disebabkan suplai darah yang kaya oksigen semakin berkurang. Seperti pernyataan yang

dikemukakan oleh Luthfiyah (2007) bahwa bagian perifer berdekatan dengan cabang vena porta dan arteri hepatica sehingga daerah periportal selalu mendapatkan makanan dan oksigen lebih baik dari pada daerah

sentrolobular. Konsentrasi oksigen dalam darah pada zona periportal adalah 9 – 13%, sedangkan konsentrasi oksigen dalam darah pada zona sentrolobuler adalah 4 – 5%.



Gambar 1. Struktur histologi hepar kontrol (perbesaran 400×) (N : Hepatosit normal; VS: Vena sentralis; S : Sinusoid).



Gambar 2. Struktur histologi hepar setelah perlakuan DES dosis 0,336 µg/ g bb (N : Normal; V: Sel Bervakuola; Ne : Nekrosis; VS : Vena Sentralis; S: Sinusoid).

Tingginya tingkat kerusakan pada zona sentrolobular disebabkan oleh terganggunya suplai O₂ yang diperlukan untuk metabolisme sel. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Winekler *et al.* dalam Rusmiati & Lestari (2004) bahwa oksigen sangat penting untuk berbagai reaksi seluler sehingga apabila suplai oksigen terganggu, maka reaksi seluler tidak berjalan sebagaimana mestinya.

Disamping itu, perubahan yang terjadi pada struktur histologi hepar juga terkait dengan enzim-enzim mikrosom karena beberapa obat mampu meningkatkan aktivitas enzim tersebut. DES merupakan senyawa toksik, apabila masuk ke dalam tubuh akan diinduksi oleh enzim mikrosom (*mycrosomal cytochrome P-450*) dalam hepar. Proses ini akan meningkatkan produksi radikal bebas (senyawa kimia) yang pada akhirnya dapat menimbulkan kerusakan pada hepatosit (Jawi *et al.* 2006).

Terjadinya kerusakan pada hepar ditandai dengan meningkatnya kadar enzim transaminase. *Serum Glutamat Oxaloasetate Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamat Piruvate Transaminase* (SGPT) merupakan dua enzim transaminase yang dihasilkan terutama oleh sel-sel hati apabila sel-sel hepar mengalami kerusakan. Kedua enzim ini dapat

digunakan sebagai indikator dalam mendeteksi kerusakan sel-sel hepar, yang dapat memberi gambaran adanya gangguan pada hati (Gmikro 2006). Pengaruh pemberian DES terhadap kadar SGOT dan SGPT pada hepar dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil uji Anava untuk kadar SGOT dan SGPT dengan taraf signifikansi 1% diperoleh nilai $p(0,000) < 0,01$. Hal ini menunjukkan bahwa DES berpengaruh terhadap kadar SGOT dan SGPT. Hasil uji Duncan untuk kadar SGOT dan SGPT menunjukkan bahwa rata-rata kadar SGOT dan SGPT tertinggi adalah pada kelompok DES 0,336 $\mu\text{g/g}$ BB yakni sebesar 204,66 U/I untuk SGOT dan 76,33 U/I pada SGPT, sedangkan kerusakan struktur hepatosit tertinggi ialah pada kelompok DES 0,168 $\mu\text{g/g}$ BB.

Nilai normal SGOT pada manusia berkisar dari 3 - 45 unit per liter (u/l), sedangkan SGPT yang dianggap normal adalah 0 - 35 unit per liter (u/l) (Arnita 2007). Menurut Harrison (2000) SGOT dan SGPT normal pada manusia adalah sekitar 35 U/I. Sedangkan menurut Mitruka dalam Wibowo *et al.* (Tanpa Tahun) Kadar normal SGOT tikus putih adalah $141 \pm 67,4$ IU/I dan kadar normal SGPT tikus putih adalah $12,6 \pm 4,40$ IU/I.

Tabel 2. Pengaruh perlakuan DES terhadap rata-rata jumlah hepatosit normal dan hepatosit yang mengalami kerusakan pada zona lobulus hepar.

Zona lobulus hepar	Rerata hepatosit normal ($\bar{x} \pm Sd$)	Rerata hepatosit yang rusak ($\bar{x} \pm Sd$)
Sentrolobuler	$37,38 \pm 12,88^a$	$6,24 \pm 12,54^b$
Sentrolobuler-periportal	$63,01 \pm 20,75^c$	$5,23 \pm 10,74^b$
Periportal	$47,26 \pm 17,24^b$	$3,29 \pm 7,71^a$

Keterangan: Superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata pada uji Duncan taraf 1%.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan DES terhadap kadar SGOT dan SGPT.

Dosis ($\mu\text{g/g}$ BB)	SGOT U/I ($\bar{x} \pm SD$)	SGPT U/I ($\bar{x} \pm SD$)
Kontrol	$17,33 \pm 2,16^a$	$27,00 \pm 3,16^a$
Wijen	$40,33 \pm 2,16^b$	$26,50 \pm 4,03^a$
DES 0,084	$89,00 \pm 12,29^c$	$40,00 \pm 6,16^b$
DES 0,168	$154,00 \pm 10,90^d$	$47,83 \pm 5,14^c$
DES 0,336	$204,66 \pm 14,90^e$	$76,33 \pm 10,76^d$

Keterangan: Superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata pada uji Duncan taraf 1%.

Peningkatan dosis DES yang diberikan pada mencit (*Mus musculus*) meningkatkan kadar SGOT dan SGPT. Semakin tinggi dosis DES yang diberikan, maka kadar SGOT dan SGPT pun semakin meningkat. Seperti yang telah dijelaskan diatas, bahwa kerusakan hepatosit merupakan manifestasi adanya efek metabolisme zat toksik di dalam hepar yaitu DES. Kenaikan kadar transaminase dalam serum disebabkan oleh sel-sel yang kaya transaminase mengalami nekrosis atau hancur (Hadi dalam Irnawati *et al.* 2005). Menurut Irnawati *et al.* (2005) nekrosis hati adalah kematian hepatosit yang ditandai oleh pembengkakan mitokondria, pembengkakan sitoplasma, penghancuran organel dan inti, dan pecahnya membran plasma.

Kerusakan sel berupa nekrosis menyebabkan pembengkakan inti dan sitoplasma kemudian pecah menumpahkan kandungan isi sel ke jaringan ekstraselular karena adanya gangguan pada pompa natrium yang diakibatkan oleh kekurangan ATP. ATP sangat penting untuk integritas hepatosit. Apabila kadar ATP rendah, maka enzim intraseluler akan keluar dari dalam darah dan menyebabkan kerusakan pada hepar (Kane *et al.* 1985).

Tingginya kadar SGOT-SGPT sebagai tes/uji fungsi hepar tidak selalu ditandai dengan tingginya kerusakan hepatosit karena tergantung pada luas, macam kerusakan hepar, kepekaan metode test serta ada tidaknya usaha kompensasi oleh sel hepar yang masih sehat. Menurut Sudoyo *et al.* (2006) seringkali tidak terdapat hubungan antara tingginya kadar enzim dengan derajat kerusakan hepatosit. Pada kasus hepatistis akut, dengan sedikit kerusakan hepatosit dapat terjadi peningkatan enzim SGOT dan SGPT yang sangat hebat. Peningkatan SGPT lebih besar daripada SGOT apabila terjadi infeksi akut, namun tidak sampai pada mitokondria sel. Apabila terjadi kerusakan mitokondria atau kerusakan parenkim sel (hepar) yang terlihat meningkat adalah SGOT.

Gangguan metabolisme pada hepatosit akibat zat toksik yang menyebabkan kerusakan morfologik atau fungsional mampu diatasi dengan adanya regenerasi hepatosit. SGOT-SGPT yang rendah belum tentu tidak mengindikasikan terjadi kerusakan sel-sel hepar. Hal ini berdasarkan pernyataan Arnita (2007) karena SGOT tidak hanya dihasilkan pada hepar saja, melainkan banyak dijumpai

pada organ jantung, hati, otot rangka, pankreas, paru-paru, sel darah merah dan sel otak. Saat sel organ tersebut mengalami kerusakan, maka SGOT akan dilepaskan dalam darah. Menurut Horrison (2000) SGPT ditemukan secara spesifik dalam sitosol, sedangkan SGOT ditemukan pada mitokondria dan sitosol.

Jadi pemberian estrogen sintetis khususnya DES diduga menyebabkan peningkatan kadar superoksida yang dapat menyebabkan kerusakan DNA yang berujung pada kerusakan hepatosit. Kerusakan hepatosit terlihat dari meningkatnya sel yang mengalami nekrosis, piknosis dan sel yang bervakuola. Disamping itu kerusakan hepatosit terlihat dari meningkatnya kadar SGOT dan SGPT setelah pemberian estrogen sintetis.

KESIMPULAN

Pemberian estrogen sintetis yaitu DES pada mencit betina strain Balb C secara *gavage* selama 15 hari menyebabkan kerusakan hepatosit berupa piknosis, sel bervakuola dan nekrosis. Kerusakan tertinggi berupa nekrosis pada pemberian DES dosis 0,168 µg/g bb. Kadar SGOT dan SGPT dalam darah meningkat seiring dengan meningkatnya dosis.

Ucapan terimakasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada PHK A2 Jurusan biologi FMIPA Universitas Jember yang telah membiayai penelitian ini melalui program riset grant dengan surat perjanjian nomor 036/PHKA2/Jurusan Biologi/2007.

DAFTAR PUSTAKA

- Achadiat. 2003. Amankah Mengonsumsi Obat saat Hamil. [serial on line]. <http://www.kompas.com>[6 januari 2007].
- Anonim. 1979. Diethylstilbestrol dan Diethylstilbestrol Dipropionate. *IARC Monographs on the Evaluation of the carcinogenic Risk of Chemical to Human*. 21:173- 209.
- Arikunto S. 1998. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktek*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Arnita. 2007. Temulawak Penawar Hati. (Serial on line)<http://temulawak.Blogspot.com/2007/11/temulawak-obat-hepatitis.htm>. [6 Desember 2008]
- Calbreath DF. 1992. *Clinical Chemistry*. WB. Saunder Company. USA.

- Chen J, Li Y, Livigne JA, Trush MA & Yager JD. 1999. Increased Mitochondrial Superoxide Production in Rat Liver Mitochondria, Rat Hepatocytes, and HepG2 Cells following Ethinyl Estradiol Treatment. *Toxicological Sciences*.**51**: 224-235.
- Dharmasaputra. 2002. Terapi Sulih Hormon Tidak Seratus Persen Aman. [serial on line]. <http://www.kompas.com>. [6 Januari 2007].
- Giusti RM, Iwamoto K & Hatch EE. 1995. Diethylstilbestrol revisited: a review of the long-term health effects. *Ann Intern Med*. **122**:778-788.
- Gmikro. 2006. SGOT-SGPT Sering Bikin Kecele. [serial on line]. [16 Februari 2007].
- Harrison. 2000. *Prinsip-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam*. Volume 4. Edisi 13. Jakarta : EGC.
- Holland. 2002. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan Dan Efek Sampingnya*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Hudson CE, Schulte BA & Norris RR. 2001. *Steroid Hormone modulate Expression of Cytochrome P-450 Enzymes in Male Hamster Reproductive Tract and Leiomyosarcomas*. USA: University of Memphis.
- Irnawati, Widyawaruyanti & Studiawan. 2005. Pengaruh Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Kulit Batang *Artocarpus champedon* Spreng Terhadap Kadar Enzim SGPT dan SGOT Mencit. [serial online].<http://www.journal.unair.ac.id/login/jurnal/filer/MFA-5-3-07.pdf>. [6 Desember 2008].
- Jawi IM, Manuaba IBR, Sutirtayasa IWP & Muruti G. 2006. Pemberian Glutamin Menurunkan Kadar Bilirubin Darah serta Mengurangi Nekrosis Sel-Sel Hati setelah Pemberian Aktivitas Fisik Maksimal dan Parasetamol pada Mencit. *Dexa Medica*. **4**(9).
- Kane AB, Petrovich DR, Stern RO & Farber JL. 1985. ATP depletion and Loss of Cell Integrity in Anoxic Hepatocyte and Silica-treated P388D1 Macrophages. *AJP-Cell Physiology* **249**(3): 256-266.
- Luthfiah S. 2007. Pengaruh Pemberian Plum BUM (Pb) Asetat Peroral terhadap Gambaran Histologik Hepar Mencit (*Mus Musculus*) Penelitian Eksperimental Laboratorik. [serial on line]. [20 April 2007].
- Ngabekti & Isnaeni. (Tanpa Tahun). *Pemanfaatan Kurkumin Untuk Mengeliminir Pengaruh Diazonin terhadap Kerusakan Hati Mencit (*Mus musculus* L)*. Semarang: Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang.
- Newbold RR, Banks PE & Jefferson WN. 2006. Adverse Effects of The Model Environmental Estrogen Diethylstilbestrol are Transmitted to Subsequent Generations. *Endocrinology*. **147**(6): s11-s17.
- Rusmiati & Lestari. 2004. Struktur Histologis Organ Hepar Ren Mencit (*Mus musculus* L) Jantan setelah Perlakuan dengan Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L). *Bioscientiae*.**1**(1): 23-30. [serial on line]. [17 April 2008].
- Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M & Setiati S. 2006. *Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Suntoro S. 1983. *Metode Pewarnaan (Histologi dan Histokimia)*. Jakarta : Bhratara Karya Aksara.
- Wibowo AW, Maslachah L & Bijanti R (Tanpa Tahun). Pengaruh Pemberian Perasan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diet Tinggi Lemak. Bagian Farmasi Veteriner FKH Universitas Airlangga. Serial on line. <http://www.journal.unair.ac.id>. [12 September 2008].