

Efek Profilaksis Perasan Daun *Paederia foetida L.* terhadap Ulkus Lambung Tikus Putih Terinduksi Etanol

The Prophylactic Effect of Paederia foetida L. Leaves Squeeze to Histological Features Of White Rats Gastric Ulcer Induced By Ethanol

Bayu Kurniawan Fitra¹, Sri Nabawiyati Nurul Makiyah²

¹Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta,

²Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Abstract

*Gastric ulcer is an ulcer which is caused by acid and pepsin which is happened because imbalance between aggressive and defensive factors. There is some causes of gastric ulcer, for the examples non steroid anti-inflammatory drugs (NSAID), irritant factors, alcohol, foods and beverages and also helicobacter pylori. The purpose of this research is to prove prophylaxis effect of *P. foetida L.* leaves squeeze to gastric ulcer in the white rats which has been induced by ethanol.*

*Research method which is used is laboratory experimental with post only control group research design. Thirty female Sprague Dawley white rats with 3 months in age and 145-250 grams in weight is divided into 6 groups (normal control, negative control, group with 2% squeeze, 4% squeeze, 8% squeeze and positive control). Sample grouping is done randomly. Ulcer induction with 1 ml of 80% ethanol is done after the rats given *P. foetida L.* leaves squeeze for 3 days and fasted for 24 hours. Scoring the depth of the ulcer and distribution of inflammatory cells is done by microscopic observation according of Hadi, S (2002). Result of the depth of the ulcer is analyzed which kruskall-wallis and continued with mann whitney. Result of the distribution of inflammatory cells is analyzed which one way anova and continued with paired T-test.*

*Statistic result shows depth in group of ulcer squeeze in leaves *P. foetida L.* 8% is less than from a group of negative control ($p < 0,05$). In the other groups of squeeze that 2% and 4%, shows that the depth of ulcer is less than a group of negative control too, although in statistic it was not significant ($p > 0,05$). In observation the spreading of inflammatory cell shows that group of leaves *P. foetida L.* squeeze 2%, 4% and 8% are less than group of negative control in the other hand in statistic was not significant ($p > 0,05$). The conclusion is squeeze of leaves *P. foetida L.* 8 % has prophylaxis effect with gastric ulcer of white rats induced by ethanol.*

Keywords: ethanol, gastric ulcer, *Paederia foetida L.*, prophylaxis

Abstrak

Ulkus lambung adalah ulkus yang disebabkan oleh asam dan pepsin, yang terjadi akibat ketidakseimbangan antara faktor agresif dan faktor defensif. Ada banyak penyebab tukak lambung,

seperti obat anti inflamasi non steroid (OAINS), beberapa faktor iritan seperti, alkohol makanan dan minuman serta kuman *Helicobacter pylori*.

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *post only control group*. Sebanyak 30 ekor tikus putih betina *Sprague Dawley* 3 bulan, dibagi menjadi 6 kelompok (kontrol tanpa perlakuan, kontrol negatif, perlakuan perasan 2%, 4%, 8% dan kontrol positif). Pengelompokan sampel dilakukan secara acak. Tikus diberi perasan daun *P. foetida L.* selama 3 hari dan dipuasakan selama 24 jam kemudian induksi ulkus menggunakan 1 ml etanol 80%. Penilaian kedalaman ulkus dan penyebaran sel radang dilakukan melalui pengamatan mikroskopis menurut Hadi, S. (2002). Hasil pengamatan kedalaman ulkus dianalisis secara statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Hasil pengamatan penyebaran sel radang dianalisis secara statistik menggunakan One Way Anova dilanjutkan dengan Paired T-Test.

Hasil statistik menunjukkan kedalaman ulkus kelompok perasan daun *P. foetida L.* 8% lebih rendah daripada kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$). Pada kelompok perasan 2% dan 4%, juga menunjukkan kedalaman ulkus lebih rendah daripada kelompok kontrol negatif meskipun secara statistik tidak signifikan ($p > 0,05$). Pada pengamatan penyebaran sel radang menunjukkan kelompok perasan daun *P. foetida L.* 2%, 4% dan 8% lebih rendah daripada kelompok kontrol negatif meskipun secara statistik tidak signifikan ($p > 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa perasan daun *P. foetida L.* 8% memiliki efek profilaksis terhadap ulkus lambung tikus putih terinduksi etanol.

Kata kunci: etanol, Paederia foetida L. , profilaksis, ulkus lambung

Pendahuluan

Lambung sebagai lambung makanan berfungsi menerima makanan/minuman, menggiling, mencampur dan mengosongkan makanan ke dalam duodenum. Lambung yang selalu berhubungan dengan semua jenis makanan, minuman dan obat-obatan akan mengalami iritasi kronik. Masalah kesehatan/penyakit lambung yang umumnya terjadi di masyarakat adalah nyeri perut, perut kembung, maag, masuk angin, nyeri usus dan lambung. Penyebab masalah kesehatan/penyakit seperti yang tersebut di atas salah satunya adalah tukak peptik.¹

Tukak peptik adalah tukak yang disebabkan oleh asam dan pepsin, yang terjadi akibat ketidakseimbangan antara faktor agresif dan faktor defensif. Patogenesis terjadinya tukak peptik adalah ketidakseimbangan antara faktor agresif yang dapat merusak mukosa dan faktor defensif

yang memelihara keutuhan mukosa lambung dan duodenum. Tiga faktor utama yang berperan dalam proses terjadinya ulkus peptikum adalah gaya hidup (*lifestyle*) seperti stres dan diet, asam lambung dan pepsin serta bakteri *Helicobacter pylori*. Etanol diketahui sebagai salah satu faktor yang dapat meningkatkan resiko erosi mukosa lambung dan pembentukan ulkus. Etanol merupakan agen ulserogenik yang bila diberikan ke tikus secara intragastrik akan menyebabkan erosi perdarahan lambung yang berat. Penyakit tukak peptik yaitu tukak lambung dan tukak duodenum merupakan penyakit yang masih banyak ditemukan dalam kelompok usia di atas 45 tahun.⁸ Tukak lambung tersebar di seluruh dunia dengan prevalensi berbeda tergantung pada sosial ekonomi, demografi, dijumpai lebih banyak pada pria meningkat pada usia lanjut dan kelompok sosial ekonomi rendah dengan puncak pada dekade keenam.¹

Terapi ulkus lambung bertujuan untuk meringankan gejala, mencegah kekambuhan, mempercepat penyembuhan dan mencegah komplikasi. Salah satu pengobatan ulkus lambung adalah dengan obat profilaksis atau sitoproteksi seperti sukralfat.

Indonesia adalah Negara yang kaya akan tanaman obat. Salah satu tanaman obat yang digunakan untuk pengobatan oleh masyarakat Indonesia adalah *P. foetida L.* Tanaman ini jenis tanaman merambat dan tumbuh liar di tepi hutan, di tepi-tepi sungai dan di semak belukar. Daun *P. foetida L.* dapat digunakan sebagai obat sakit perut, perut kembung, nyeri usus dan lambung, desentri, masuk angin, herpes dan sebagai makanan.⁷

Pemanfaatan daun *P. foetida L.* sebagai tanaman obat belum terbukti kebenarannya secara ilmiah. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian ilmiah untuk membuktikan efek farmakologis daun *P. foetida L.* Salah satunya adalah penelitian mengenai efek profilaksis daun *P. foetida L.* terhadap gambaran histologis ulkus lambung terinduksi etanol pada tikus putih. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya efek profilaksis perasan daun *Paederia foetida L.* terhadap ulkus lambung tikus putih terinduksi etanol.

Bahan dan Cara

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *post only control group*. Variabel bebas pada penelitian ini adalah perasan daun *P. foetida L.*, variabel tergangungnya adalah gambaran histologis ulkus lambung.

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih betina galur *Sprague Dawley* berumur 3 bulan dengan berat 145-250 gram.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, alat-alat gelas, mortir, stamper, kain saring, seperangkat alat bedah tikus, sonde oral tikus, kaca pembesar, mistar, styrofoam dan jarum.

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun *Paederia foetida L.*, etanol 80%, sukralfat farmasetis (sirup), formalin 10%, NaCl fisiologis (0,9%), pikrat dan aquades.

Sebelum penelitian dilakukan identifikasi, hal ini penting untuk mengetahui bahwa bahan utama yang diteliti benar-benar daun *P. foetida L.* serta menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Daun *P. foetida L.* yang digunakan dalam penelitian didapat dari desa Bibis, Poncosari, Srandakan, Bantul. Pengambilan daun dilakukan pada bulan Agustus dan September.

Pembuatan perasan sangat sederhana, yaitu dengan cara ditumbuk kemudian diperas menggunakan kain tipis. Pertama-tama, daun yang akan dibuat perasan ditimbang sesuai keperluan, kemudian dicuci dengan air mengalir dan diangin-anginkan sebentar dengan tujuan untuk menghilangkan air cucian yang masih menempel pada daun sehingga dapat diperoleh perasan dengan konsentrasi murni (100%). Setelah diangin-anginkan, daun diiris kecil untuk memudahkan proses penumbukan. Penumbukan dilakukan hingga daun halus, kemudian disaring dengan bantuan kain tipis. Setelah diperoleh perasan dengan konsentrasi 100%, hasil perasan diencerkan menjadi konsentrasi 2%, 4% dan 8% dengan penambahan akuades.

Subyek penelitian dibagi dalam 6 kelompok secara acak dengan jumlah tiap kelompok adalah sama, yaitu 5 ekor tikus. Subyek Kelompok I merupakan kelompok kontrol tanpa perlakuan. Hewan uji diperlakukan normal seperti biasa, tanpa induksi ulkus lambung. Tujuannya agar terbentuk lambung normal tanpa ulkus. Kelompok II merupakan kelompok kontrol negatif. Hewan uji diberi perlakuan berupa induksi ulkus lambung dengan etanol 80% sebanyak 1 ml. Kelompok III, IV dan V adalah kelompok perlakuan. Ketiga kelompok ini masing-masing diberi perasan daun *P. foetida L.* dengan konsentrasi 2%, 4% dan 8% selama 3 hari, kemudian dipuasakan tanpa makan selama 24 jam. Pada hari ke-

5, masing-masing kelompok diberi perasan daun *P. foetida L.* kemudian diinduksi ulkus dengan menggunakan etanol 80% sebanyak 1 ml. Kelompok VI adalah kelompok kontrol positif. Hewan uji diberi sukralfat 0,36 ml/200 grBB selama 3 hari, kemudian dipuaskan tanpa makan selama 24 jam. Pada hari ke-5, hewan uji diberi sukralfat terlebih dahulu sebelum induksi ulkus dilakukan. Adanya subyek kelompok tanpa perlakuan dan kelompok kontrol negatif bertujuan untuk membandingkan antara lambung normal dan lambung yang mengalami ulkus, sedangkan adanya subyek kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan perasan bertujuan untuk membandingkan kesembuhan ulkus yang disebabkan oleh sitoprotektif dari sukralfat dan perasan daun *P. foetida L.*

Pembedahan dilakukan pada saat 1 jam setelah induksi ulkus dilakukan. Sebelum dibedah, tikus dianastesi dahulu dengan eter hingga mati. Caranya dengan memasukkan tikus ke dalam toples yang telah diberi cairan eter. Pembedahan dilakukan dengan membuka perut tikus dan diambil organ lambungnya. Lambung dibuka dengan menggunting sepanjang kurvatura minor. Lambung dibersihkan dengan NaCl fisiologis untuk menghilangkan debris, kotoran dan mencegah kerusakan sel-sel serta jaringan. Lambung difiksasi dalam formalin 10%, lambung dipotong dari arah esofagus kearah usus dengan lebar 0,5 cm untuk kemudian dibuat preparat histologis.

Pada masing-masing preparat histologis lambung, diamati derajat keparahan ulkus dan derajat penyebaran sel radang dalam 10 lapang pandang. Derajat keparahan ulkus terbagi kedalam 6 tingkatan, yaitu: kedalaman ulkus sampai ¼ mukosa, kedalaman ulkus sampai ½ mukosa, kedalaman ulkus sampai ¾ mukosa, kedalaman ulkus mencakup seluruh mukosa, kedalaman ulkus mencapai muskularis dan kedalaman ulkus mencapai serosa. Sedangkan derajat penyebaran sel radang terbagi kedalam 3 tingkatan, yaitu: jumlah sel radang 0-20, normal; jumlah sel radang 21-100, ringan; dan jumlah sel radang lebih dari 101, berat.

Data perbandingan kedalaman ulkus tiap kelompok dianalisis dengan analisis non-parametrik Kruskal Wallis dilanjutkan dengan Mann Whitney, sedangkan penyebaran sel radang tiap kelompok dianalisis dengan analisis One Way Anova dilanjutkan dengan Paired T-Test. tingkat kepercayaan pada analisis adalah 95% atau tingkat kemaknaan 5% ($P < 0,05$).

Hasil

Hasil rata-rata pengamatan kedalaman ulkus dan penyebaran sel radang tiap kelompok dapat diamati pada Tabel a, b, Gambar 1 dan Gambar 2.

Tabel 1. Hasil Analisis Statistik Kedalaman Ulkus

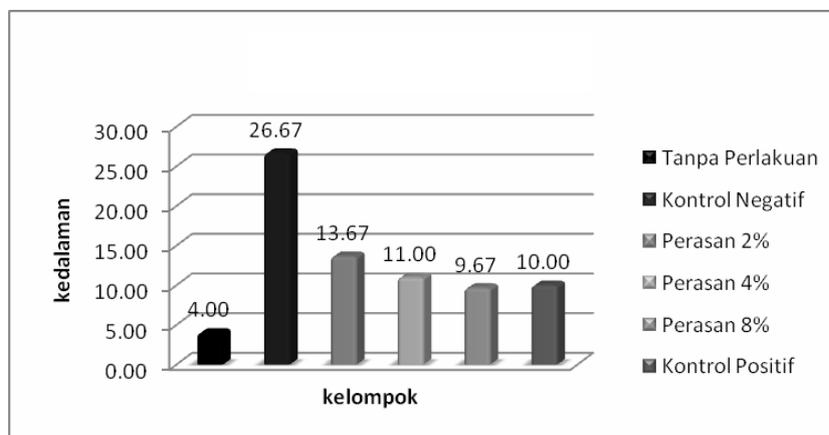
No.	Kelompok	Kedalaman Ulkus
1	Kontrol tanpa perlakuan	4.00±4.58 ^a
2	Kontrol negatif	26.67±12.58 ^b
3	Perasan 2%	13.67±3.51 ^b
4	Perasan 4%	11.00±3.61 ^b
5	Perasan 8%	9.67±2.08 ^b
6	Kontrol positif	10.00±1.00 ^{bc}

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$)

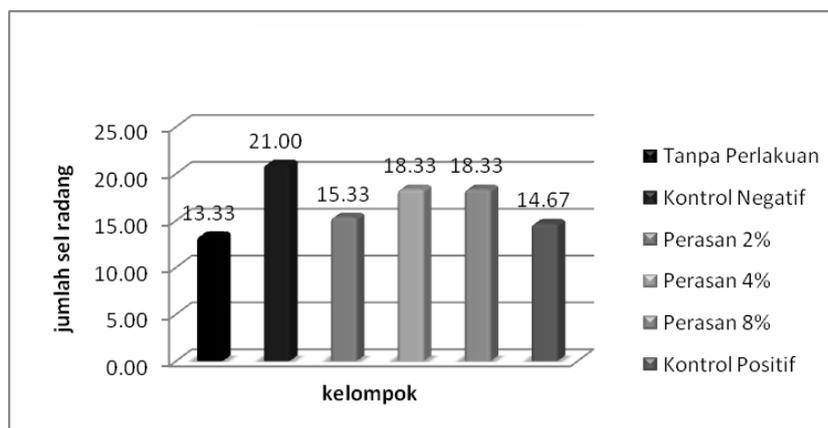
Tabel 2. Hasil Analisis Statistik Sel Radang

NO.	KELOMPOK	SEL RADANG
1	Kontrol tanpa perlakuan	13.33±1.15 ^a
2	Kontrol negatif	21.00±4.00 ^b
3	Perasan 2%	15.33±2.52 ^{ab}
4	Perasan 4%	18.33±4.04 ^{ab}
5	Perasan 8%	18.33±1.15 ^b
6	Kontrol positif	14.67±1.15 ^{abc}

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$)



Gambar 1. Histogram perbandingan kedalaman ulkus



Gambar 2. Histogram perbandingan penyebaran sel radang

Diskusi

Faktor yang mempengaruhi terjadinya erosi dan ulkus lambung adalah perimbangan antara faktor agresif (asam dan pepsin) dan faktor pertahanan (defensif) dari mukosa lambung-duodenum. Faktor pertahanan ini antara lain adalah pembentukan dan sekresi mukus, sekresi bikarbonat, aliran darah mukosa dan difusi kembali ion hidrogen pada epitel serta regenerasi epitel. Disamping kedua faktor tadi ada faktor yang merupakan faktor predisposisi (kontribusi) untuk terjadinya ulkus lambung antara lain daerah geografis, jenis kelamin, faktor stres, herediter, merokok, infeksi bakteri, konsumsi alkohol, penggunaan obat-obatan antiinflamasi non steroid, penggunaan bisfosfonat peroral, potasium klorida, dan pengobatan immunosupresi.⁹ Tiga faktor utama yang berperan dalam proses terjadinya ulkus peptikum adalah gaya hidup (*lifestyle*) seperti stres dan diet, asam lambung dan pepsin serta bakteri *Helicobacter pylori*. Faktor-faktor lain yang memegang peranan dalam proses terjadinya ulkus peptikum adalah rokok, kafein, alkohol, stres dan OAINS.⁵

Adanya hewan uji kelompok kontrol tanpa perlakuan dengan kelompok kontrol negatif bertujuan untuk membandingkan antara lambung normal dengan lambung yang mengalami ulkus. Sedangkan adanya hewan uji kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan perasan bertujuan untuk membandingkan tingkat kesembuhan ulkus yang disebabkan efek sitoprotektif dari sukralfat dengan perasan daun *P. foetida* L.

Pada Gambar 1 dan Gambar 2. dapat dilihat bahwa lambung pada kelompok kontrol tanpa perlakuan tingkat kedalaman ulkus dan penyebaran sel radang lebih rendah daripada kelompok hewan uji lainnya. Hal ini terjadi karena pada kelompok ini tidak diinduksi ulkus. Hasil analisis data diperoleh perbedaan tingkat kedalaman ulkus dan penyebaran sel radang yang signifikan secara statistik antara kelompok kontrol tanpa perlakuan

dengan kelompok kontrol negatif, kelompok perasan 8%, serta kelompok kontrol positif ($p < 0,05$).

Pada kelompok kontrol negatif, terbentuk ulkus yang memiliki kedalaman yang bervariasi. Ada berbagai cara yang dapat dilakukan untuk induksi ulkus lambung, salah satu caranya adalah dengan etanol sebagaimana yang dilakukan pada penelitian ini. Etanol diketahui sebagai salah satu faktor yang dapat meningkatkan resiko erosi mukosa lambung dan pembentukan ulkus.² Etanol mempunyai jalur utama metabolisme alkohol yaitu *alcohol dehydrogenase* (ADH). ADH adalah suatu enzim sitosolik yang mengandung seng dan mengkatalisis perubahan alkohol menjadi asetaldehid. Enzim ini terutama dalam hati, namun dapat juga dijumpai dalam organ lain seperti otak dan lambung. Efek etanol pada lambung terutama berhubungan dengan efek toksik pada membran mukosa dan berpengaruh pada peningkatan produksi asam lambung sehingga etanol diketahui sebagai faktor yang dapat meningkatkan erosi mukosa gaster dan pembentukan ulkus. Pemberian etanol 80% sebanyak 1 ml sebagai agen penginduksi ulkus lambung pada penelitian ini didasarkan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Narayan *et al.*⁴

Kontrol positif pada penelitian ini menggunakan sukralfat. Sukralfat merupakan garam aluminium dari sukrosa sulfat. Pada suasana asam (perut kosong), obat ini membentuk pasta kental yang secara selektif mengikat pada ulkus (berupa kompleks yang stabil antara molekul obat dengan protein pada permukaan ulkus, yang tahan hidrolisis oleh pepsin) dan berlaku sebagai barrier yang melindungi ulkus terhadap difusi asam, pepsin dan garam empedu. Sukralfat juga memiliki efek sitoproteksi dengan 2 mekanisme yang berbeda, yaitu melalui pembentukan prostaglandin endogen dan melalui efek peningkatan langsung sekresi mukus.³ Pada kelompok kontrol positif juga terbentuk ulkus, namun jumlahnya lebih rendah daripada kelompok kontrol negatif.

Secara statistik perbedaan yang signifikan terjadi pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif. Perbedaan ini menunjukkan adanya efek profilaksis yang ditimbulkan oleh daun *P. foetida L.*

Kandungan kimia yang terdapat pada batang dan daun *P. foetida L.* adalah senyawa iridoid (paederosid, skandosid, asam paederosidat, asperulosid), alkaloid, sitosterol, arbutin, asam oleanolat dan minyak atsiri. Pada daun segar ditemukan senyawa iridoid, antara lain skandosid, paederosid, asperulosid, asperulin, desasetil asperulosid, asam paederosidat, paederon, paederolon, metilmerkaptan, asam palmitat, stigmasterol, beta sitosterin, kampesterol, asam ursolat, senyawa lipofilik, hentriakontan dan serilalkohol.⁷

Pemberian etanol menyebabkan peningkatan kedalaman ulkus dan penyebaran sel radang secara signifikan. Etanol menyebabkan kerusakan mukosa lambung karena produksi yang signifikan dari radikal bebas yang memacu peningkatan peroksidasi lipid dan kerusakan pada sel dan membrane sel.⁶ Sebelum diberikan etanol dilakukan pemberian perasan *P. foetida L.*, hal ini dapat mengurangi kedalaman ulkus dan penyebaran sel radang secara signifikan karena pemberian perasan *P. foetida L.* memberikan proteksi melawan efek alkohol pada asam nukleat, hal ini menunjukkan kemungkinan adanya beberapa antioksidan yang melindungi mukosa lambung dari radikal bebas yang menyebabkan kerusakan.⁴

Kesimpulan

Kelompok perasan daun *P. foetida L.* dengan konsentrasi 8% menunjukkan perbaikan kedalaman ulkus yang signifikan secara statistik. Kelompok perasan daun *P. foetida L.* dengan konsentrasi 2% dan 4% menunjukkan perbaikan kedalaman ulkus, meskipun secara statistik tidak signifikan. Kelompok perasan daun *P. foetida L.* dengan konsentrasi 2%, 4% dan 8%

menunjukkan perbaikan penyebaran sel radang, meskipun secara statistik tidak signifikan. Perasan daun *P. foetida L.* dengan konsentrasi 8% memiliki efek profilaksis terhadap ulkus lambung tikus putih terinduksi etanol.

Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk lebih mengkaji keefektifan *P. foetida L.* yang berperan sebagai agen anti ulkus. Penelitian yang dilakukan menggunakan bentuk sediaan yang berbeda, dosis pemberian yang berbeda, jumlah subyek penelitian lebih banyak serta waktu penelitian yang lebih lama.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Pendidikan, Penelitian dan Masyarakat (LP3M) Universitas Muhammadiyah Yogyakarta yang telah mendanai penelitian ini

Daftar Pustaka

1. Tarigan, P. (2006). *Tukak Gaster*. Dalam *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid 1. Edisi 4. Jakarta : Pusat Penerbitan departemen Ilmu Penyakit Dalam FK UI. 340-346.
2. Farombi, E. O., & Olaleye, S. B. (2006). Attenuation of Indomethacin and HCl/Ethanol Induce Oxidative Gastric Mucosa Damage in Rats by Kolaviron, a Natural Biflavonoid of *Gracia kola* Seed. *Phytotherapy Research* 20: 14-20.
3. Setiawati, A. (1992). Farmakologi dan Penggunaan Obat-obat Sitoproteksi. *Cermin Dunia Kedokteran* No.79. Diakses tanggal 30 April 2008, dari <http://www.kalbefarma.com/files/cdk.files/11FarmakologiTerapi079.pdf/11FarmaakologiTerapi079.html>
4. Narayan, S., Devi, S. R., Jainu, M., Sabitha, K. E., Shyamala, C.

- S.Protective effect of polyherbal drugs, ambrex-in ethanol induced gastric mucosal lesion in experimental rats. *Indian Journal of Pharmacology Vol. 36*. Diakses tanggal 28 April 2008, dari http://www.ijp-online.com/temp/IndianJPharmacol36134_023346.pdf
5. Kurniati, S. (2004, September). Faktor-Faktor Yang Berperan Pada Terjadinya Tukak Peptik. *Majalah Kedokteran Atma Jaya Volume 3 No. 3*, 193-197.
 6. Shetty R., Kumar V., Naidu M.U.R., Ratnakar K.S. (2000). Effect of Ginko Biloba Extract on Ethanol-induced Gastric Mucosal lesions in Rats. *Indian Journal of Pharmacology 32*: 313-317
 7. Sudarsono, P.N., Gunawan, D., Wahyuono, S., Donatus, I. A., Purnomo.. (2002). *Tumbuhan Obat II: Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan*. Yogyakarta : Pusat Studi Obat Tradisional UGM.
 8. Akil, H.A.M. (2006). *Tukak Duodenum*. Dalam *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid 1. Edisi 4. Jakarta : Pusat Penerbitan departemen Ilmu Penyakit Dalam FK UI. 347-350
 9. Shrestha, S & Lau, D. (2006). *Gastric Ulcers*. Diakses 17 April 2007, dari <http://www.emedicine.com/med/topic849.html>
-