

Toksisitas Ekstrak Etanol *Mangifera foetida* L. sebagai Pengkelat Besi Ditinjau dari LD₅₀ dan Komponen Sel Darah

Tri Wahyuni¹, Santi Purna Sari¹, Ari Estuningtyas², HJ Freisleben²

¹Laboratorium Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia

²Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

Email : wahyuni.tri@ui.ac.id

Abstrak

Ekstrak etanol daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) dapat menurunkan konsentrasi besi dalam darah tikus galur *Sprague dawley* yang telah diinduksi dengan besi berlebih (*iron overload*). Tujuan penelitian ini adalah menentukan nilai toksisitas akut (LD₅₀) dari ekstrak etanol *M.foetida* dengan menggunakan metode weil dan pengaruhnya terhadap komponen dalam darah. Penelitian ini menggunakan desain randomisasi secara acak. Pada penelitian ini menggunakan 25 mencit jantan dan 25 mencit betina galur *DDY* yang dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok pertama sampai keempat merupakan kelompok yang diberikan ekstrak etanol *M.foetida* dengan dosis bertingkat yang disuspensikan dengan aquades yang diberikan secara oral. Kelompok kelima merupakan kelompok kontrol yang diberikan aquades. Nilai LD₅₀ ditentukan dengan cara menghitung jumlah kematian total dari semua kelompok. Hasil LD₅₀ dari ekstrak menunjukkan tidak adanya kematian sampai pada dosis terbesar (13,013 g/kg). Pengukuran dilanjutkan dengan penghitungan komponen darah (eritrosit, trombosit, leukosit, dan konsentrasi hemoglobin). Hasil menunjukkan bahwa ekstrak pada dosis 1,626; 3,253; 6,506 and 13,013 g/kg tidak mengubah dari jumlah atau konsentrasi komponen darah.

Abstract

Ethanol extract of bacang mango leaves (*Mangifera foetida* L.) decreased iron concentration in blood *Sprague dawley* rats that had been induced iron overload. The aim of this experiment was to determine acute toxicity (LD₅₀) value of ethanolic extract of *M.foetida* by weil method and its effect to blood component. This study was conducted by employing a complete random design using 25 male and 25 female mice of *DDY* strain which divided into 5 groups. The first group until fourth group were administered ethanolic extract of *M.foetida* with dose variation which suspension in aquadest orally. The fifth group was control that administered aquadest. The LD₅₀ was determined by the total of death on all group. LD₅₀ value of the extract showed no death in the biggest doses (13.013 g/kg). The examination was continued with measured blood count (erythrocytes, trombocytes, leukocytes, and haemoglobin concentration). It was shown that the extract at dose 1.626; 3.253; 6.506 and 13.013 g/kg unchanged the blood count measurement.

Keywords: Mangifera foetida, iron overload, acute toxicity, LD₅₀, blood count

PENDAHULUAN

Talasemia merupakan kelompok heterogen anemia hemolitik hereditas yang ditandai oleh penurunan kecepatan sintesis satu rantai polipeptida hemoglobin atau lebih (Szuber, 2008). Pengobatan anemia pada pasien talasemia adalah dengan melakukan transfusi darah secara rutin, yang bertujuan untuk mempertahankan transport oksigen ke jaringan. Namun hal ini dapat mengakibatkan kelebihan besi (*iron overload*). Penyebaran penyakit ini mulai dari Mediterania, Timur Tengah, Anak Benua (*sub-continent*) India, Asia bagian timur-selatan, bagian Asia yang berdekatan dengan Rusia, sepertiga utara dari Cina (Wong, 2003; Siah 2005).

Pencegahan kelebihan besi dalam tubuh dapat diatasi dengan pemberian obat yang bekerja sebagai pengikat timbunan besi dalam tubuh (*chelating agent*). Obat yang digunakan secara klinis untuk terapi kelebihan besi adalah desferoksamin, deferipron, dan deferasirok. Namun obat-obat tersebut memiliki efek samping yang dapat memperburuk kondisi pasien, sangat toksik, $t_{1/2}$ sangat pendek, harganya sangat mahal, cara pemberiannya invasif, serta butuh penyesuaian dosis untuk pasien dengan gangguan hati (Brittenham, 2003; Hašková *et al.*, 2011; Liu, 2002; Siah, 2005).

Di Indonesia, penyakit talasemia masih menjadi masalah karena tingginya angka kesakitan dan kematian. Menurut data dari

RS Cipto Mangunkusumo pada 2008 dari 1412 pasien baru yang diobati, kematiannya mencapai 0,8%. Pada tahun 2006 terdapat 3053 pasien talasemia, dan jumlah ini meningkat menjadi 5000 pasien pada tahun 2008 (Purwaningsih, 2011).

Akibat efek samping dari penggunaan kelator besi, penderita talasemia mencari alternatif pengobatan yang lebih aman dan mudah didapat, salah satunya adalah dengan memanfaatkan bahan alami (herbal). Mangiferin merupakan senyawa yang terkandung dalam *M.indica* L. yang terbukti sebagai kelator besi *in vitro* dan *in vivo*. Mangiferin bekerja sebagai kelator besi dengan cara mengkelat besi yang ada dalam darah (Gonza'lez *et al.*, 2017; Pardo-Andreu, 2005; Purwaningsih, 2011).

Peneliti di Indonesia telah mengembangkan penelitian yang menggunakan ekstrak air daun *M.foetida* L. yang memiliki kadar mangiferin tertinggi dibandingkan tujuh kultivar daun mangga yang lain. Secara *in vivo* *M.foetida* L. mampu menurunkan kadar besi dalam darah tikus yang diinduksi *iron overload* (Purwaningsih, 2011; Nishiyama *et al.*, 2006).

Salah satu persyaratan yang harus dimiliki herbal adalah uji keamanan, salah satunya uji toksisitas akut. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan uji toksisitas akut ekstrak *M.foetida* L., dan pengaruhnya terhadap komponen sel darah (Frank, 1995).

METODE

Alat yang digunakan: blender (National), shaker, rotary evaporator (Buchi), alkoholmeter, oven (Hotpack), waterbath, kertas saring, cawan penguap (Jangkar), alat-alat gelas, sonde lambung, spuit (Terumo), penangas air (Lab-Line), timbangan analitik (Ohaus), timbangan hewan (Mettler-Toledo), bejana kromatografi (Camag).

Bahan yang digunakan: daun mangga bacang (*M.foetida* L.) yang diperoleh dari Depok, dan telah di determinasi di Lipi Kebun Raya Bogor. Nomor surat untuk hasil determinasi adalah 4565/IPH.3/KS/X/2014.

Bahan kimia yang digunakan: etanol 96 % (Merck), aquades, n-heksan (Merck), kloroform (Merck), asam klorida (Merck), Alumunium (III) klorida (Merck), Na asetat (Merck), petroleum eter (Merck), serbuk Zn (seng), serbuk Mg (magnesium), serbuk halus borat dan asam oksalat, CMC Daiichi (PT. Brataco Chemica), lempeng silica gel 60 F254 (Merck).

Ekstraksi daun *M. foetida* L

Sampel daun *M.foetida* yang telah dikeringkan, dimasukkan ke dalam botol coklat gelap dan dimaserasi dengan etanol 70% selama 7 hari sambil sesekali diaduk. Maserasi dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan. Hasil maserasi diuapkan pelarutnya dengan alat rotari evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental etanol.

Karakterisasi ekstrak etanol *M.foetida* L.

Karakterisasi terhadap ekstrak merupakan tahap melengkapi data dalam penetapan parameter ekstrak sesuai dengan monografi resmi Materia Medika Indonesia (MMI) dan uji kandungan kimia ekstrak dilakukan sebagai tambahan parameter ekstrak yang mengacu pada prosedur Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat dari Departemen Kesehatan, dilakukan menurut cara identifikasi yang lazim sesuai Materia Medika III (Aanonim, 2000).

Penyiapan hewan coba

Hewan uji yang digunakan mencit (*Mus musculus* L.) galur DDY (*Deutschland Denken Yoken*), berumur lebih kurang dua bulan dengan berat badan 20-30 gram. Hewan uji diperoleh dari bagian nonruminansia dan satwa harapan, Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

Sebelum dimulai penelitian, dilakukan pengajuan proposal penelitian pada Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI). Surat keterangan lolos kaji etik tercantum pada 738/UN2.F1/ETIK/2014. Penelitian dilakukan dengan menggunakan 25 ekor mencit putih jantan dan 25 ekor mencit betina yang dibagi secara acak kedalam 5 kelompok perlakuan. Sebelum digunakan untuk penelitian, semua mencit diadaptasi terlebih dahulu selama kurang lebih satu minggu untuk penyesuaian lingkungan, mengontrol kesehatan, dan berat badan serta menyeragamkan makanan.

Penentuan dosis

Penentuan dosis terbesar dilakukan melalui uji pendahuluan untuk mengetahui dosis terbesar yang dapat disondekan kepada mencit. Dosis ini merupakan dosis IV untuk mencit dengan berat badan 25 gram. Dosis III diperoleh dari pengenceran dosis IV. Pengenceran yang sama dilakukan terhadap dosis III untuk mendapatkan dosis II. Pengenceran yang sama dilanjutkan sampai diperoleh dosis I.

Pengujian toksisitas akut

Larutan uji diberikan secara oral sekali dengan menggunakan sonde lambung dalam jumlah tertentu sesuai dengan dosis yang diberikan. Setelah 24 jam dari pemberian dosis, dilihat tanda-tanda kematian dan jumlah tikus yang mati (Anonim, 1995; Frank, 1995; Harmita, 2005).

Pemeriksaan hematologi

Pengambilan darah. Pengambilan darah dilakukan melalui sinus orbital mata. Darah yang keluar ditampung dalam mikrotube yang telah diberi heparin. Pengambilan darah dari sinus orbital dilakukan sebanyak dua kali, yaitu pada saat sebelum diberikan perlakuan (pemberian obat), dan 14 hari setelah perlakuan. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan pada darah

Perhitungan jumlah eritrosit. Prinsip dari perhitungan jumlah eritrosit adalah darah diencerkan dalam pipet eritrosit kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung *Improved Neubauer*. Jumlah eritrosit dihitung dalam

volume tertentu dengan menggunakan faktor konversi 10000. Sebagai larutan pengencer yang digunakan adalah Larutan Hayem (Soebrata, 2001).

Perhitungan jumlah trombosit. Prinsip perhitungan jumlah trombosit adalah darah diencerkan dalam pipet eritrosit kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung *Improved Neubauer*. Jumlah trombosit dihitung dalam volume tertentu dengan menggunakan faktor konversi 2000. Sebagai larutan pengencer yang digunakan adalah Larutan Rees–Ecker (Soebrata, 2001).

Perhitungan jumlah leukosit. Prinsip perhitungan jumlah leukosit adalah darah diencerkan dalam pipet leukosit kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung *Improved Neubauer*. Jumlah leukosit dihitung dalam volume tertentu dengan menggunakan faktor konversi 50. Jumlah leukosit per mm³ darah dapat dihitung. Larutan pengencer yang digunakan adalah Larutan Turk (Soebrata, 2001).

Penetapan kadar hemoglobin (Metode Sahli). Prinsip dari penetapan kadar hemoglobin dengan metode Sahli adalah mereaksikan hemoglobin dengan asam klorida yang menghasilkan asam hematin yang berwarna coklat tua kemudian dibandingkan secara visual dengan warna standard pada alat hemometer. Kadar hemoglobin dibaca dalam g/100 ml (Soebrata, 2001).

Analisis data

Analisis data untuk uji toksisitas akut menggunakan metode Weil. Analisis data komponen darah dilakukan dengan uji ANOVA dua arah. Uji ANOVA dilakukan dengan menggunakan software SPSS 16.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi ekstrak dilakukan dengan tujuan untuk menjamin agar ekstrak yang diteliti memenuhi persyaratan yang ditetapkan. Hasil dari karakterisasi ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil karakterisasi ekstrak etanol daun *M.foetida* L

| Parameter | Nilai (%) |
|----------------------------|-------------|
| Kadar air | 3,97 |
| Kadar abu total | 8,17 |
| Kadar abu tidak larut asam | 0,37 |
| Kadar sari larut air | 37,37 |
| Kadar sari larut etanol | 47,63 |
| Kadar flavonoid | 1,035 (b/b) |

Kadar air ekstrak masih berada dalam persyaratan kadar air maksimal, yaitu 10%. Parameter kadar air penting karena air merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroba dan air dapat memicu terjadinya reaksi enzimatik yang dapat menyebabkan perubahan kandungan kimia bahan, sehingga kadar air dalam simplisia diusahakan serendah mungkin. Penambahan data untuk karakterisasi dilakukan dengan melakukan identifikasi senyawa kimia (penepisan fitokimia). Hasil identifikasi ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2.

Identifikasi senyawa kimia menunjukkan hasil positif untuk golongan senyawa Flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Hasil Flavonoid yang positif, mengindikasikan kemungkinan adanya senyawa mangiferin yang berfungsi sebagai pengkelat besi. Identifikasi kandungan mangiferin pada ekstrak air daun *M.foetida* L. dilakukan secara kualitatif dengan metode KLT. Pengujian menggunakan ekstrak etanol daun *M.foetida* L. yang dibandingkan dengan mangiferin standar. Hasil identifikasi mangiferin dapat dilihat pada hasil pola kromatogram pada Gambar 1.

Tabel 2. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun *M.foetida* L.

| Kandungan kimia | Pereaksi kimia | Ekstrak etanol |
|----------------------|-------------------------------------|----------------|
| Alkaloid | Mayer LP | - |
| | Bouchardat LP | - |
| | Dragendorf LP | - |
| Flavonoid | Serbuk Zn + HCl 2N + HCl (p) | + |
| | Serbuk Mg + HCl (p) | + |
| | Serbuk As.Borat + Serbuk As.Oksalat | + |
| Saponin | Air panas | + |
| Triterpenoid/Steroid | Lieberman-Burchard | + |

Keterangan:

+ : ekstrak mengandung golongan senyawa yang diujikan

- : ekstrak tidak mengandung golongan senyawa yang diujikan



Gambar 1. Pola kromatogram hasil kromatografi lapis tipis mangiferin standar (kiri) dan fraksi etanol ekstrak etanol daun *M.foetida* L.(kanan)

Hasil uji menunjukkan adanya kandungan mangiferin pada ekstrak air daun *M.foetida* L. Hal ini ditunjukkan oleh adanya kesamaan bercak antara ekstrak etanol daun *M.foetida* L. dan mangiferin standar yang berbentuk oval,

berwarna kuning, dan memiliki nilai R_f 0,86. Bercak pada kromatogram lebih terlihat jelas setelah dilakukan penyemprotan spot dengan $AlCl_3$. Hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol daun *M.foetida* dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol daun *M.foetida* L. setelah 24 jam

| Kelompok Perlakuan | N | Jumlah Kematian Mencit | |
|--------------------|---|------------------------|--------|
| | | Jantan | betina |
| I | 5 | 0 | 0 |
| II | 5 | 0 | 0 |
| III | 5 | 0 | 0 |
| IV | 5 | 0 | 0 |
| V | 5 | 0 | 0 |

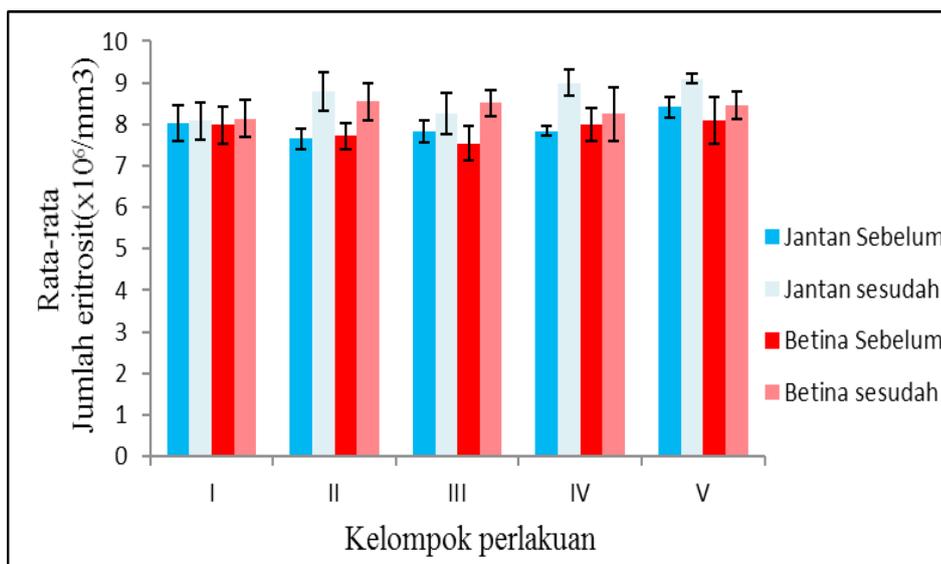
Keterangan:

- I : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 1,626 g/kg BB
- II : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 3,253 g/kg BB
- III : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 6,506g/kg BB
- IV : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 13,013 g/kg BB
- V : Kelompok yang diberikan aquadest

Potensi ketoksikan ekstrak etanol daun *M.foetida* L. pada mencit jantan dan mencit betina menunjukkan bahwa pada dosis pemberian tidak menyebabkan kematian hingga pada dosis tertinggi, yaitu 13,013 g/kg bb. Sehingga nilai LD_{50} untuk ekstrak etanol ini belum bisa ditentukan.

Hasil penelitian ini dapat dibandingkan dengan penelitian yang menggunakan *M.indica* L. secara *in vivo* yang menyatakan bahwa ekstrak *M.indica* L. sampai dosis 2000 mg/kg/ hari tidak menimbulkan embriotoksik

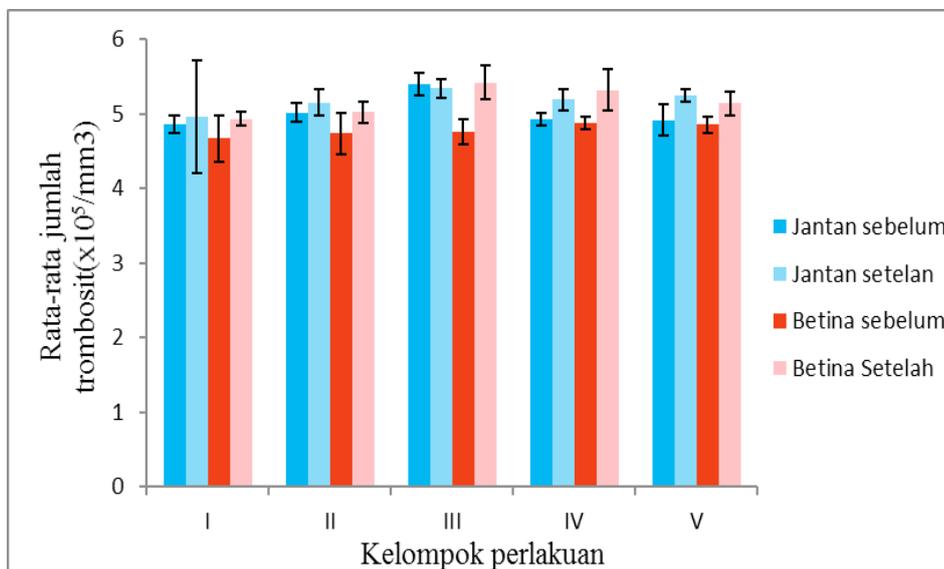
dan genotoksik (Gonza'lez, 2007). Pada penelitian lain menggunakan mangiferin, menyatakan bahwa uji toksisitas akut secara oral dengan hewan coba tikus dan mencit diperoleh hasil LD_{50} lebih besar dari 5000 mg/kg BB. Selanjutnya, pada uji toksisitas subkronik diperoleh bahwa pada pemberian dosis 2000 mg/kg BB tidak menyebabkan terjadinya toksisitas pada tikus (Rodeiro *et al.*, 2007).



Keterangan:

- I : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 1,626 g/kg BB
- II : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 3,253 g/kg BB
- III : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 6,506g/kg BB
- IV : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 13,013 g/kg BB
- V : Kelompok yang diberikan aquadest

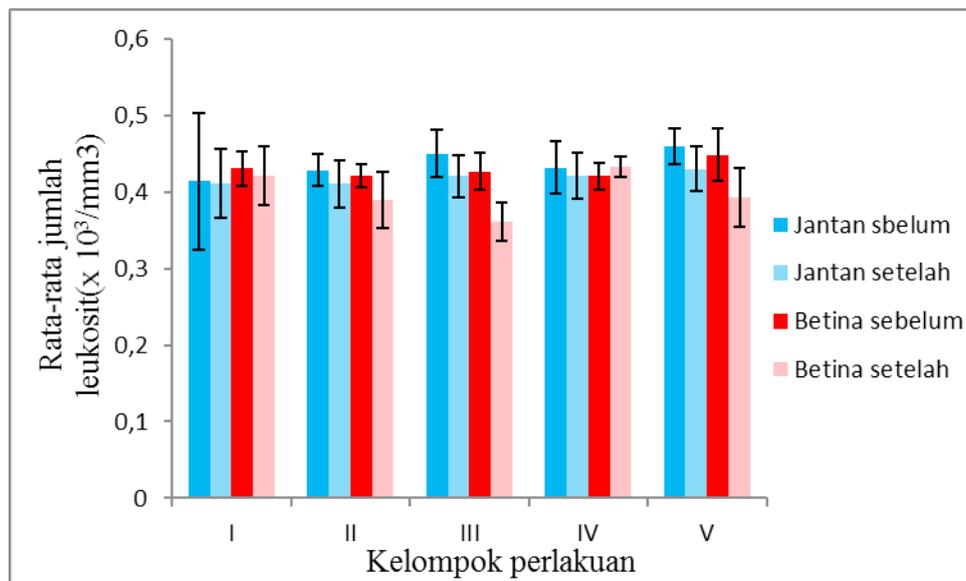
Gambar 2. Diagram batang rata-rata jumlah eritrosit mencit tiap kelompok perlakuan



Keterangan:

- I : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 1,626 g/kg BB
- II : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 3,253 g/kg BB
- III : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 6,506g/kg BB
- IV : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 13,013 g/kg BB
- V : Kelompok yang diberikan aquadest

Gambar 3. Diagram batang rata-rata jumlah trombosit mencit tiap kelompok perlakuan



Keterangan:

I : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 1,626 g/kg BB

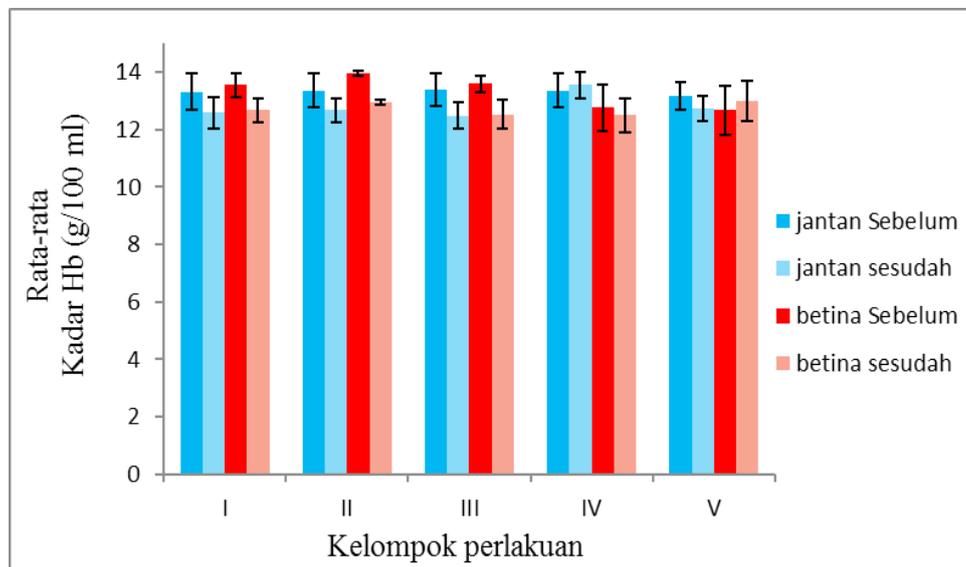
II : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 3,253 g/kg BB

III : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 6,506g/kg BB

IV : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 13,013 g/kg BB

V : Kelompok yang diberikan aquadest

Gambar 4. Diagram batang rata-rata jumlah leukosit mencit tiap kelompok perlakuan



Keterangan:

I : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 1,626 g/kg BB

II : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 3,253 g/kg BB

III : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 6,506g/kg BB

IV : Kelompok yang diberikan sampel uji dosis 13,013 g/kg BB

V : Kelompok yang diberikan aquadest

Gambar 5. Diagram batang rata-rata kadar Hb mencit tiap kelompok perlakuan

Gambar 2, Gambar 3, Gambar 4, dan Gambar 5 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah eritrosit, jumlah trombosit, jumlah leukosit, dan kadar eritrosit tidak mengalami perubahan yang signifikan antara sebelum perlakuan dibandingkan dengan empat belas hari setelah perlakuan. Pemberian ekstrak etanol daun *M.foetida* L pada uji toksisitas akut tidak mempengaruhi jumlah komponen darah yang bermakna. Selain hal itu, hasil dari pembedahan hewan uji pada semua kelompok tidak ditemukan perbedaan secara gambaran kondisi organ pada semua kelompok.

Pemberian ekstrak etanol *M.foetida* L. tidak mempengaruhi komponen darah terkait dengan mekanisme kerja dari senyawa yang memiliki gugus fenol khususnya flavonoid yang memiliki gugus katekol. Senyawa ini mampu mengikat besi bebas dalam tubuh. Besi bebas dapat terjadi pada kondisi *iron overload* (Pardo-Andreu, 2007). Sementara pada kondisi normal, sebagian besar besi terikat dengan hemoglobin dalam eritrosit. Sehingga, senyawa ini tidak bisa mengikat besi yang terikat globin pada sel darah.

KESIMPULAN

Potensi ketoksikan ekstrak etanol daun *Mangifera foetida* L. pada mencit jantan dan mencit betina menunjukkan bahwa pada dosis pemberian tidak menyebabkan kematian hingga pada dosis tertinggi, yaitu 13,013 g/kg bb.

Peningkatan dosis ekstrak etanol daun *Mangifera foetida* L. tidak menyebabkan perubahan komponen darah yang signifikan (tidak terjadi perubahan yang bermakna).

DAFTAR ACUAN

- Anonim. (1995). *Farmakope Indonesia* (Ed IV). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Anonim. (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional
- Brittenham, G.M. (2003). Iron chelators and iron toxicity. *Alcohol*, 30(2), 151-8
- Franck, C.Lu. (1995). *Toksikologidasar: Asas, Organ sasaran, dan penilaian risiko* Edisi 2 (Edi Nugroho, Penerjemah.). Jakarta: UI Press
- Gonza'lez, J.E., Rodri'guez, M.D., Rodeiro, I., Morffi, J., Guerra, E., Leal, F., *et al.* (2007). Lack of in vivo embryotoxic and genotoxic activities of orally administered stem bark aqueous extract of *Mangifera indica* L. (Vimang®). *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2526–2532
- Harmita & Maksum Radji. (2005). *Buku ajar analisis hayati* (Ed.2). Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI
- Hašková, P., Koubková, L., Vávrová, A., Macková, E., Hrušková, K., Kovaříková, P., *et al.* (2011). Comparison of

- various iron chelators used in clinical practice as protecting agents against catecholamine-induced oxidative injury and cardiotoxicity. *Toxicology*, 289, 122–31
- Liu, Z.D., Hider, R.C. (2002). Design of iron chelators with therapeutic application. *Coordination Chemistry Reviews*, 232, 151-71
- Nishiyama, K., Choi, Y.A., Honsho, C., Eiadthong, W., Yonemori, K. (2006). Application of genomic in situ hybridization for phylogenetic study between *Mangifera indica* L. and eight wild species of *Mangifera*. *Scientia Horticulturae*, 110, 114–17
- Pardo-Andreu, G., Delgado, R., Velho, J.A., Curti, C., Vercesi, A.E. (2005). Iron complexing activity of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone, inhibit mitochondrial lipid peroxidation induced by Fe²⁺-citrate. *European Journal of Pharmacology*, 513, 47-55
- Pardo-Andreu, G.L., Cavalheiro, R.A., Dorta, D.J., Naal, Z., Delgado, R., Vercesi, A.E., *et al.* (2007). Fe(III) shifts the mitochondria permeability transition-eliciting capacity of mangiferin to protection of organelle. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 320, 646-53
- Purwaningsih, E.H., Hanani, E., Amalia, P., Krisnamurti, D.G. (2011). The chelating effect of *Mangifera foetida* water extract on serum thalassemic patient. *Journal Indonesia Medical Asociacion*, 61(8), 321-5
- Rodeiro, I., Donato, M.T., Jimé'nez, N., Garrido, G., Delgado, R., Go'mez-Lecho'n, M.J. (2007). Effects of *Mangifera indica* L. aqueous extract (Vimang) on primary culture of rat hepatocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2506–12
- Siah CW, Trinder D, Olynnnyk JK. (2005). Iron overload. *Clinica Chimica Acta*, 358, 24-36
- Soebrata G. (2001). *Penentuan Laboratorium Klinis*. Jakarta: Dian Rakyat
- Szuber, N., Buss, J.L., Soe-Lin, S., Felfly, H., Trudel, M., Ponka, P. (2008). Alternative treatment paradigm for thalassemia using iron chelators. *Experimental Hematology*, 36, 773-85
- Wong, C., Richardson, D.R. (2003). β -Thalassaemia: emergence of new and improved iron chelators for treatment. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 35, 1144-9