

Research Article

**The Effect of Chicken (*Gallus gallus domesticus*) Eggshell's Powder
towards Wound Healing of Incision Wound
on Male Swiss-Webster Mice**

Rahman A. Nugraha*, Harijadi Pramono, Roro Wahyudianingsih*****

* Faculty of Medicine Maranatha Christian University

**Physiology Department Faculty of Medicine Maranatha Christian University

*** Anatomical Pathology Department of Pharmacology Faculty of Medicine
Maranatha Christian University

Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

Email: anugrah_284@yahoo.com

Abstract

Domestic chicken eggshells contain calcium and protein that could be useful in wound healing process. This research was conducted to determine whether domestic chicken eggshells can accelerate wound healing. Twenty one male Swiss-Webster mice with 2 cm incision were divided into 3 groups. Negative control group were given Carboxymethyl cellulose 1% (CMC), positive control group were given feracrylum 1% (FER), and the eggshells group given domestic chicken eggshells powder (KT). Treatment and data measurement was measured every day until the 7th day. On the 7th day the average length of the wound were analyzed and the skin tissue is taken for microscopic examination. Data analyzed using one-way ANOVA followed by Post Hoc Least Significant Difference (LSD) with $p=0,05$. On macroscopic examination, there were highly significant differences between KT compared to CMC and highly significant differences between KT compared to FER. the average length of wound on the 7th day on KT 0,63 cm shorter than CMC 1,07 ($p=0,000$) and FER 0,81 cm ($p=0,003$). On microscopic examination, the degree of reepithelization on KT groups are severe, moderate for collagen density, fibroblasts density, subepithelial neutrophil density, degree of edema, and mild for angiogenesis. We conclude domestic chicken eggshells powder can accelerate wound healing.

Key words: domestic chicken eggshells, incision wound, wound healing

Research Article

**Pengaruh Bubuk Kulit Telur Ayam
(*Gallus gallus domesticus*) terhadap Penyembuhan Luka
Insisi pada Mencit Swiss-Webster Jantan**

Rahman A. Nugraha*, Harijadi Pramono, Roro Wahyudianingsih*****

*Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

**Bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

***Bagian Patologi Anatomi Universitas Kristen Maranatha

Jalan Prof. Drg. Suria Sumantri MPH No.65 Bandung 40164 Indonesia

Email: anugrah_284@yahoo.com

Abstrak

Kulit telur ayam peternak mengandung kalsium dan protein yang dapat bermanfaat dalam proses penyembuhan luka. Tujuan penelitian ini mengetahui apakah kulit telur ayam peternak dapat mempercepat penyembuhan luka. Hewan yang digunakan 21 ekor mencit Swiss-Webster jantan dengan luka insisi 2 cm pada punggung dan dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok kontrol negatif *carboxymethyl cellulose* 1% (CMC), kontrol positif *feracrylum* 1% (FER), dan kelompok kulit telur ayam peternak (KT). Perlakuan dan pengukuran data dilakukan setiap hari selama 7 hari. Jaringan kulit diambil pada hari ke-7 untuk pemeriksaan mikroskopis. Data yang diukur rerata panjang luka hari ke-7. Analisis data menggunakan ANOVA satu arah dilanjutkan *post hoc Least Significant Difference* (LSD) dengan $p=0,05$. Dari pemeriksaan makroskopis terdapat perbedaan sangat signifikan antara kelompok KT dengan kelompok CMC, dan perbedaan sangat signifikan dengan kelompok FER. Rerata panjang luka kelompok KT adalah 0,63 cm, lebih kecil dari kelompok CMC 1,07 cm ($p=0,000$) dan kelompok FER 0,81 cm ($p=0,003$). Pada pemeriksaan mikroskopis, derajat reepitelisasi kelompok KT adalah *severe, moderate* untuk densitas kolagen, densitas fibroblas, densitas neutrofil subepitelial, dan derajat edema, dan *mild* untuk angiogenesis. Dari penelitian ini disimpulkan Pemberian bubuk kulit telur ayam peternak (*Gallus gallus domesticus*) mempercepat penyembuhan luka insisi.

Kata kunci : kulit telur ayam peternak, luka insisi, penyembuhan luka

Research Article

Pendahuluan

Kulit adalah organ terbesar dari tubuh, yang membentuk 16% dari berat badan. Kulit berhubungan langsung dengan lingkungan sekitar dan menutupi permukaan dalam tubuh. Kulit berfungsi sebagai pelindung yang mencegah bagian dalam tubuh dari paparan trauma mekanis, fisik maupun kimiawi.¹ Trauma pada permukaan kulit tidak jarang mengakibatkan diskontinuitas permukaan kulit dengan derajat yang bervariasi mulai dari luka ringan sampai berat, baik terbuka maupun tertutup.² Setiap luka memiliki potensi untuk menjadi infeksi jika tidak dirawat dengan benar. Infeksi dari luka tersebut dapat menyebabkan kerusakan kulit dan jaringan, yang kemudian dapat mengakibatkan komplikasi serius.³

Menurut beberapa penelitian penggunaan larutan *povidone iodine* sebagai antiseptik dalam penyembuhan luka sudah tidak efektif, bahkan dapat menghambat penyembuhan luka dan infeksi.⁴ Selain informasi tersebut, dilaporkan *feracrylum* antiseptik terbaru yang sudah terbukti dan terstandar di Indonesia memiliki efek lebih baik daripada *povidone iodine*. Selain efek antibakterial yang lebih baik, kandungan *feracrylum* yang aman dan tidak mempengaruhi fungsi sistemik, mulai dijadikan sebagai antiseptik alternatif.⁵

Di Jepang, telah diketahui bahwa membran kulit telur dapat digunakan sebagai pertolongan pertama untuk pengobatan luka. Pengobatan cara ini telah digunakan di medan perang sejak periode Perang Amerika dari abad ke-16.⁶ Telah dilakukan suatu penelitian yang ingin membuktikan perbedaan antara cangkang kulit telur dan membran kulit telur dalam penyembuhan luka. Penelitian tersebut menjelaskan bahwa kulit telur dengan atau tanpa dengan membran ternyata efektif sebagai akselerator untuk penyembuhan luka.⁷ Kulit telur ayam tersusun atas senyawa protein sederhana dan ± 95% kalsium dalam bentuk kalsium karbonat.⁸ Kandungan kalsium dan senyawa protein ini sangat penting peranannya dalam proses penyembuhan luka.⁹

Di Indonesia diperkirakan setiap tahunnya terdapat sekitar 75.112 ton limbah kulit telur ayam peternak, 18.986 ton kulit telur bebek, dan 18.620 ton limbah kulit telur ayam kampung.¹⁰ Patut disayangkan bila kandungan limbah kulit telur yang bermanfaat tersebut dibiarkan terbuang percuma. Karena itu Peneliti ingin menyelidiki pengaruh kulit telur ayam peternak (*Gallus gallus domesticus*) terhadap penyembuhan luka.

Research Article

Metode

Bahan yang digunakan adalah bubuk kulit telur ayam peternak (*Gallus gallus domesticus*) dari salah satu peternakan ayam di Kota Bandung, *feracrylum* 1% (FER), *carboxymethyl cellulose* 1% (CMC), ketamin, dan alkohol 70%. Kulit telur diproses menggunakan cara yang sederhana, yaitu dicuci menggunakan NaCl 0,9%, dijemur di bawah sinar matahari lalu diblender sampai halus seperti bedak.

Mencit diadaptasikan dahulu sebelum penelitian dilakukan. Mencit dipelihara dalam kandang tanpa pembatas beralaskan sekam padi, diberi makan pelet dan minum air suling. Bulu punggung mencit dimana lokasi luka akan dibuat, dicukur dengan menggunakan pisau cukur. Pada bagian yang telah dicukur dibuat garis sepanjang 2 cm. Ketamin digunakan sebagai anastesi secara intramuskular (IM) sebanyak 0,2 ml.

Mencit yang sudah teranestesi dioles alkohol 70% pada lokasi luka secara topikal sebagai tindakan antiseptik. Pada lokasi luka dibuat luka insisi sepanjang 2 cm dengan tipe kedalaman luka kategori II atau *partial thickness* (hingga sebagian lapisan dermis) dengan menggunakan pisau bedah steril. Kelompok kontrol negatif diberi *carboxymethyl cellulose* 1% (CMC), kelompok kontrol positif diberi *feracrylum* 1% (FER), kelompok kulit telur (KT) diberi bubuk kulit telur ayam peternak (*Gallus gallus domesticus*).

Tiga pemberian tersebut dilakukan secara topikal setiap hari sebanyak 1x penaburan untuk kelompok KT dan 1x pengolesan untuk kelompok FER dan CMC selama 7 hari. Setelah 7 hari perlakuan, luka diambil secara potongan memanjang sebesar 2x3 cm dari panjang tubuh mencit yang sebelumnya telah dilakukan euthanasia aktif dengan cara dislokasi leher. Jaringan luka yang diambil tersebut selanjutnya dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan Hematoxyline dan Eosin (HE) lalu diamati di bawah mikroskop.

Data yang diukur adalah panjang luka untuk pengamatan makroskopis dan gambaran derajat reepitelisasi, densitas neutrofil subepitelial, derajat edema, derajat angiogenesis, densitas deposit kolagen, dan densitas fibroblas untuk pengamatan mikroskopis. Pengukuran panjang luka menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam cm pada setiap kelompok untuk menentukan rerata panjang luka.

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian FK Maranatha -RS Imanuel Bandung dengan no. SK 129/KEP/V/2015.

Research Article



Gambar 1 Luka insisi pada mencit



Gambar 2 Pemberian bubuk kulit telur

Histopatologi

Gambaran derajat reepitelisasi diukur di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x dan dinilai secara semi kuantitatif dengan skoring pada tabel 1.

Tabel 1 Skoring Reepitelisasi¹¹

Skor	Reepitelisasi
1/Absent	tidak ada reepitelisasi
2/Mild	reepitelisasi hingga 1/3
3/Moderate	reepitelisasi hingga 2/3
4/Severe	reepitelisasi hingga >2/3

Densitas neutrofil subepitelial, derajat edema, derajat angiogenesis, densitas deposit kolagen, dan densitas fibroblas diukur dengan perbesaran 400x sebanyak 5 Lapang Pandang Besar (LPB) jaringan luka dengan skoring pada tabel 2.

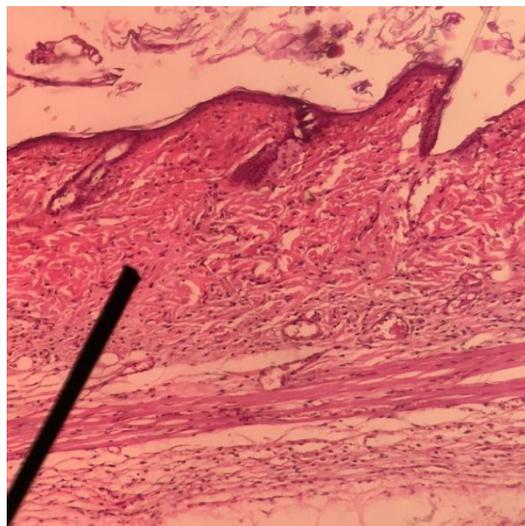
Tabel 2 Skoring Neutrofil Subepitelial, Edema, Angiogenesis, Kolagen, Fibroblast¹¹

Skor	
1/Absent	0-10%
2/Mild	11-40%
3/Moderate	41-70%
4/Severe	71-100%

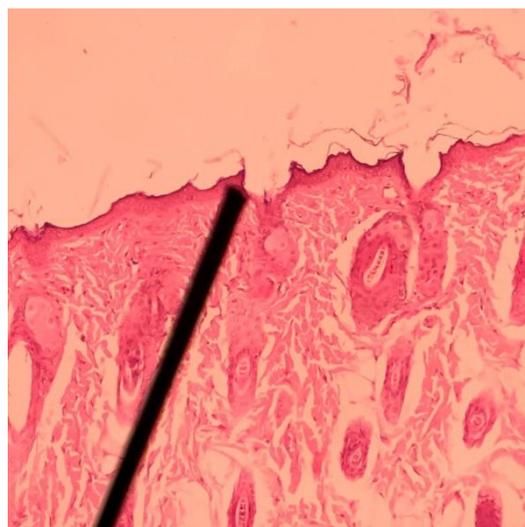
Research Article

Skor 1/*Absent* diberikan ketika dalam 5 LPB jaringan luka terdapat sekitar 0-10% gambaran yang terbentuk, 2/*Mild* ketika terdapat 11-40% gambaran yang terbentuk, 3/*Moderate* ketika terdapat 41-70% gambaran yang terbentuk, dan 4/*Severe* ketika terdapat 71-100% gambaran yang terbentuk.¹¹

Skoring densitas neutrofil subepitelial dilakukan dengan cara mengamati sel-sel neutrofil yang menginfiltrasi jaringan luka.¹¹



Gambar 3 Skor 3/*Moderate* Neutrofil Subepitelial (FER, hari ke-7)



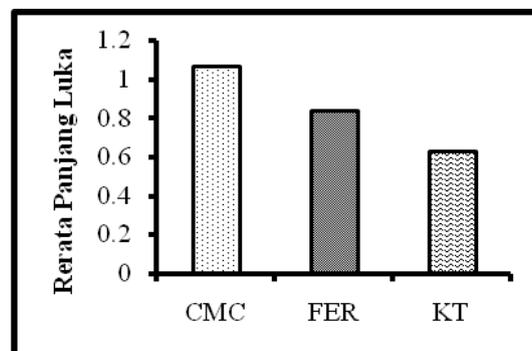
Gambar 4. Skor 1/*Absent* Neutrofil Subepitelial (KT, hari ke-7)

Research Article

Skoring derajat edema dilakukan dengan cara mengamati regangan yang terbentuk pada subepidermis jaringan luka. Skoring derajat angiogenesis dilakukan dengan cara mengamati pembentukan pembuluh darah baru pada subepidermis jaringan luka. Skoring densitas deposit kolagen dilakukan dengan cara mengamati ketebalan kolagen yang terbentuk pada jaringan luka. Skoring densitas fibroblas dilakukan dengan cara mengamati sel-sel fibroblas yang terbentuk pada subepidermis jaringan luka.¹¹ Skoring densitas neutrofil, derajat edema, derajat angiogenesis dilakukan untuk mengetahui gambaran fase pertama dalam penyembuhan luka yaitu fase inflamasi yang berlangsung pada \pm 5 hari awal penyembuhan luka sebagai barier pertama dalam menanggapi luka. Skoring densitas fibroblas dan densitas kolagen dilakukan untuk mengetahui perjalanan proses penyembuhan luka menuju fase selanjutnya yaitu fase proliferasi dan *remodelling*.^{12,13}

Hasil

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Terapi-Rumah Sakit Pendidikan Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran. Hasil pengukuran rerata panjang luka insisi pada 3 kelompok dapat dilihat pada gambar 5. Data yang digunakan adalah panjang luka pada hari ke-7.



Gambar 5 Grafik Rerata Panjang Luka (cm) Setiap Kelompok pada Hari ke-7

Pada gambar 5 menunjukkan bahwa rerata panjang luka pada hari ke-7 paling kecil terdapat pada kelompok KT diikuti oleh kelompok FER dan kelompok CMC. Rerata panjang luka kelompok CMC pada hari ke-7 adalah 1,07 cm, FER adalah 0,81 cm dan KT adalah 0,63 cm. Kelompok KT menunjukkan rerata panjang luka yang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok FER dan kelompok CMC.

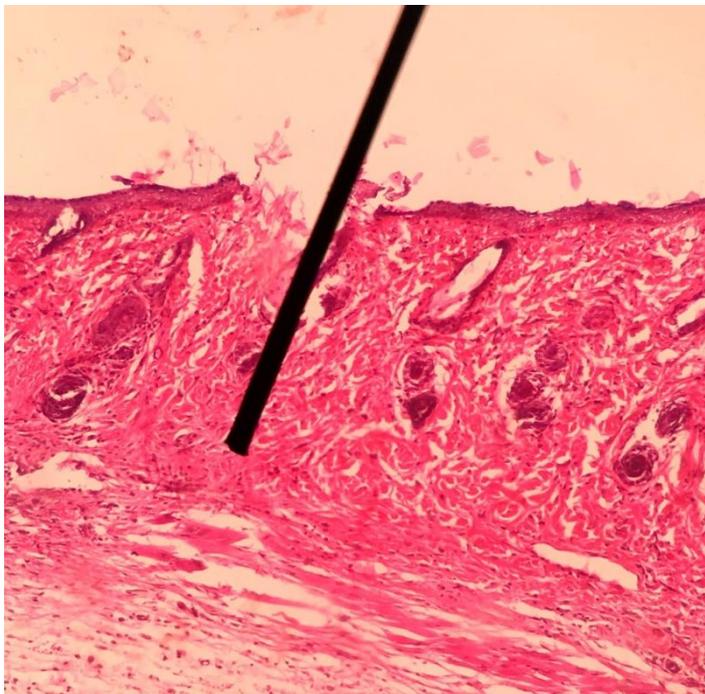
Research Article

Hasil uji normalitas didapatkan $p > 0,05$ pada seluruh kelompok hewan uji menunjukkan data berdistribusi normal. Hasil uji homogenitas didapatkan $p = 0,512$ menunjukkan data rerata panjang luka pada hari ke-7 homogen ($p > 0,05$) maka uji ANOVA dapat dilanjutkan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rerata panjang luka pada hari ke-7 pada setiap kelompok perlakuan.

Pada uji ANOVA, karena $F_{hitung} = 21,630 > F_{tabel} 0,05 (2,18) = 3,55$ dengan $p = 0,000 < \alpha$ H_0 ditolak, terima H_1 dan hal lainnya, yang berarti sedikitnya terdapat sepasang perlakuan yang menghasilkan perbedaan rerata dalam waktu yang ditentukan.

Hasil uji beda rerata Post Hoc LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rerata panjang luka yang sangat bermakna ($p < 0,01$) antara kelompok CMC dengan kelompok perlakuan lainnya. Kelompok KT dibandingkan dengan kelompok FER menunjukkan hasil yang sangat bermakna dengan $p = 0,005$. Hal ini menunjukkan kelompok KT memiliki potensi lebih baik dari kelompok lainnya.

Gambaran histopatologi hasil pemeriksaan mikroskopis di hari ke-7 tiap kelompok dapat dilihat pada gambar 6, 7, dan 8.

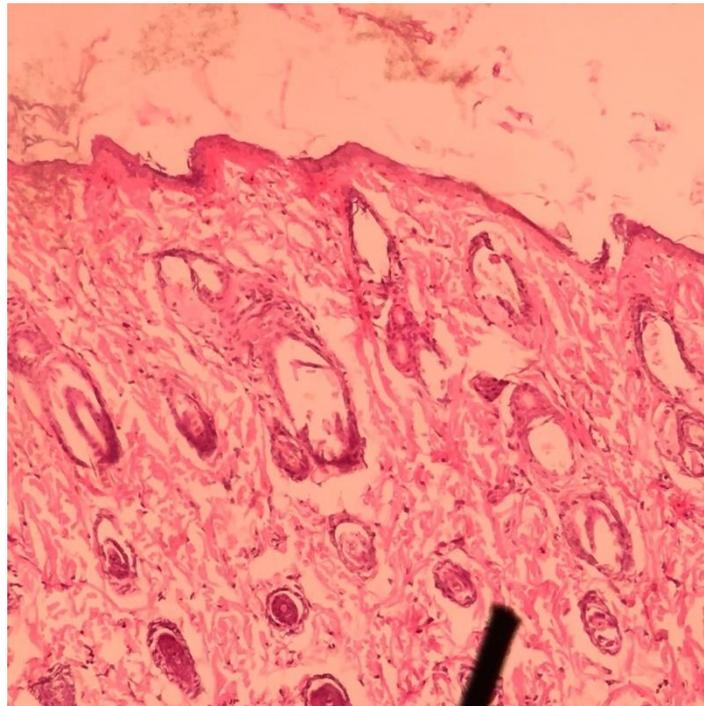


Reepitelisasi : 1/3 permukaan
Neutrofil subepitelial : 3/Moderate
Edema : 3/Moderate
Angiogenesis : 3/Moderate
Densitas kolagen : 4/Severe
Fibroblas : 3/Moderate

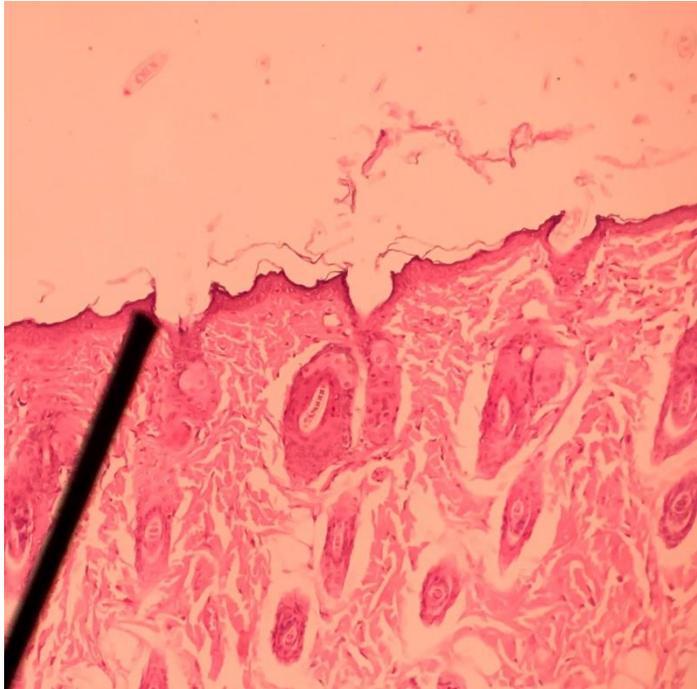
Gambar 6 Gambaran Jaringan Kulit dengan Pemberian *Carboxymethyl cellulose* 1%

Reepitelisasi : $> 2/3$ permukaan
Neutrofil subepitelial : 4/Severe
Edema : 4/ Severe
Angiogenesis : 3/Moderate
Densitas kolagen : 3/Moderate
Fibroblas : 3/Moderate

Research Article



Gambar 7 Gambaran Jaringan Kulit dengan Pemberian *Feracrylum* 1%



Reepitelisasi : >2/3 permukaan
Neutrofil subepitelial : 2/*Mild*
Edema : 2/*Mild*
Angiogenesis : 1/*Absent*
Densitas kolagen : 2/*Mild*
Fibroblas : 1/*Fibroblas*

Gambar 8 Gambaran Jaringan Kulit dengan Pemberian Bubuk Kulit Telur Ayam

Research Article

Rerata skor hasil pemeriksaan mikroskopis tiap kelompok dapat dilihat pada tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3 Rerata skor hasil pemeriksaan mikroskopis

	CMC	FER	KT
Reepitelisasi	3	3	4
Neutrofil Subepitelial	3	3	3
Edema	3	3	2
Angiogenesis	2	3	2
Kolagen	3	3	2
Fibroblas	2	3	2

Pada tabel 3 dapat dilihat rerata derajat reepitelisasi pada kelompok KT memiliki rerata skor 4 sedangkan kelompok CMC dan FER memiliki rerata skor 3. Derajat edema kelompok KT memiliki rerata skor 2, sedangkan CMC dan FER memiliki rerata skor 3. Derajat angiogenesis kelompok KT dan CMC memiliki rerata skor 2, sedangkan kelompok FER memiliki rerata skor 3. Densitas kolagen kelompok KT memiliki rerata skor 2, sedangkan CMC dan FER memiliki rerata skor 3. Densitas fibroblas kelompok KT dan CMC memiliki rerata skor 2, sedangkan kelompok FER memiliki rerata skor 3.

Aktivitas mikroskopik derajat reepitelisasi, derajat edema, derajat angiogenesis, densitas kolagen, dan densitas fibroblas memiliki perbedaan rerata skor. Namun densitas neutrofil subepitelial pada setiap kelompok memiliki rerata skor sama yaitu 3.

Pembahasan

Berdasarkan hasil pemeriksaan makroskopis rerata panjang luka pada hari ke-7, dapat dilihat bahwa kelompok KT dapat mempercepat penyembuhan luka, karena cangkang kulit ayam peternak (*Gallus gallus domesticus*) mengandung lisozim dan ovalbumin, ovotransferrin, ovocalyxin-36, dan kalsium yang tinggi dalam bentuk kalsium karbonat memiliki efek sebagai antiinflamasi, antibakterial, meningkatkan reepitelisasi, dan mempercepat pembekuan darah (hemostatik).^{14,15,16,17} Pada hari ke-7 didapatkan rerata panjang luka terbaik adalah kelompok KT. Hal ini disebabkan selain kandungan zat-zat yang berperan dalam penyembuhan luka lebih banyak dari kelompok lain KT juga berperan pada setiap fase-fase penyembuhan luka, sedangkan kandungan kelompok FER sebagai antiinflamasi, antibakterial, dan mempercepat pembekuan darah (hemostatik) hanya berperan pada fase pertama hemostasis dan inflamasi.^{18,5} Kandungan kelompok FER tidak bekerja secara langsung pada fase reepitelisasi dan proliferasi,

Research Article

dan fase remodeling pada proses penyembuhan luka.^{18,5} Pada penelitian kombinasi cangkang dan membran kulit telur terhadap proses penyembuhan luka dengan kehalusan bubuk 40 – 70 micron dan penaburan bubuk menggunakan alat *insufflator powder* memberi efek rerata penyembuhan luka lebih baik dibandingkan dengan kontrol negatif.⁷ Pada penelitian ini digunakan kombinasi cangkang dan membran kulit telur yang dibuat menggunakan metode yang sangat sederhana agar dapat diaplikasikan oleh masyarakat dengan mudah. Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan hasil yang sama dengan penelitian sebelumnya. Pemeriksaan mikroskopis luka pada hari ke-7 fase penyembuhan luka merupakan fase transisi antara fase inflamasi dan fase proliferasi. Fase inflamasi ditandai dengan edema, angiogenesis, dan aktifnya sel-sel inflamasi dalam menangani ancaman mikroorganisme yang berakhir pada hari ke-5, sedangkan fase proliferasi dimulai pada hari ke-4 tumpang tindih bersama fase inflamasi dengan ditandai aktifnya sel-sel fibroblas dalam rekonstruksi jaringan baru.^{19,13,12} Berdasarkan hasil pemeriksaan mikroskopis, derajat reepitelisasi kelompok KT memiliki rerata skor 4/severe, dimana proses reepitelisasi sudah terjadi pada >2/3 jaringan luka. Derajat angiogenesis kelompok KT memiliki rerata skor 2/mild, dimana proses angiogenesis terjadi pada 11-40% jaringan luka. Densitas neutrofil subepitelial kelompok KT memiliki rerata skor 3/moderate, dimana aktivitas sel-sel inflamasi terhadap mikroorganisme masih berlangsung pada 41-70% jaringan luka. Derajat edema kelompok KT memiliki skor 2/mild, dimana masih terdapat proses eksudasi pada 11-40% jaringan luka. Pada pengamatan densitas kolagen, ketebalan lapisan kolagen muda sebagai cikal bakal jaringan baru diamati. Kelompok KT memiliki rerata skor 2/mild, dimana proses deposit kolagen pada jaringan baru memiliki ketebalan 11-40% luas jaringan luka. Densitas fibroblas masing-masing kelompok memiliki skor 3/moderate, dimana sel-sel fibroblas aktif pada 11-40% jaringan luka. Fibroblas dan sel endotel yang merupakan sel terakhir menginfiltrasi luka masih belum banyak dikarenakan fase transisi tersebut.

Simpulan

Bubuk kulit telur ayam peternak (*Gallus gallus domesticus*) mempercepat penyembuhan luka insisi pada mencit Swiss-Webster jantan.

Research Article

Daftar Pustaka

1. Twomey B. Clinical guidelines (nursing): Wound care. [Cited Januari 2015], from The Royal Children's Hospital Melbourne. Available from: http://www.rch.org.au/rchcpg/hospital_clinical_guideline_index/Wound_care/2012.
2. Chandler S. Skin conditions: Five types of wounds. [Cited Oktober 26, 2015], from Livestrong. Available from: <http://www.livestrong.com/article/101274-five-types-wounds/2015>.
3. Livestrong Contributor. Skin care: 5 Things you need to know about checking a wound for infection. [Cited Oktober 27, 2015], from Livestron. Available from: <http://www.livestrong.com/article/5671-need-checking-wound-infection/2015>.
4. Sarah K. Effect of povidone-iodine on wound healing. *J Vasc Nursing*. 1999;17-23.
5. Diah. Feracrylum, hemostatik oral terbaru di Indonesia. *Jurnal Medika*. 2010; XXXVI.
6. NPO Eggshell Membrane Association. About eggshell membran :Traditional wisdom. [Cited Oktober 27, 2015], from NPO Eggshell Membrane Association Website: <http://eggmem.org/en/about/page1.php> 2011
7. Balassa LL. Patent No. US3558771A. United States. 1971.
8. Miles R & Butcher G. Concepts of eggshell quality. 1990 [Cited Oktober 27, 2015], from Electronic Data Information Source of University of Florida. Available from: <https://edis.ifas.ufl.edu/vm013>.
9. Guyton AC & Hall JE. Buku ajar fisiologi kedokteran (11 ed.). (Rachman LY, Hartanto H, Novrianti A & Wulandari N, Eds.) Jakarta: EGC;2007.
10. Kismiati S, Yuwanta T, Zuprizal, & Supadmo. The performance of laying hens fed different calcium source. *J Indones Trop Anim Agric*. 2012;263-70.
11. Turtay MG, Firat C, Samdanci E, Oguzturk H, Erbartur S & Colak C. Effects of montelukast on burn wound healing in a rat model. *Clin Invest Med*. 2010.
12. Bates CS & Bates BJ. Wound care: a collaborative practice manual for health professionals. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins;2008.
13. Efron DE, Efron AC. *Schwartz's Surgery* (8 ed). New York: McGraw-Hill. 2007.
14. Mine Y & Nolan JK. Biologically active hen egg in human health and disease. *J Poul Sci*. 2004;41:1-29.
15. Ghafouri B, Kihlstrom E, Stahlbom B, Tagesson C & Lindahl M. . PLUNC (palate, lung and nasal epithelial clone). *Biochemical society transactions*. 2003;31:810-4.
16. Yang JY, Chuang SS, Yang WG & Tsay PK. Egg membrane as a new biological dressing in split-thickness. *Chang Gung Med J*. 2003;26.
17. Zebua KS. 2012 [Cited Oktober 19, 2015], from <http://www.scribd.com/doc/102247707/pemanfaatan-kulit-telur-ayam-sebagai-pengganti-obat-luka-gores#scribd>
18. Moenadajat Y, Setiabudy R, Astrawinata DA & Gumay S. The safety and efficacy of feracrylum as compared to silver sulfadiazine in the management to deep partial thickness burn: A Clinical Study Report. *Med J Indones*. 2008;17:259-63.
19. Sjamsuhidayat RD. Buku ajar ilmu bedah edisi 2 (2nd ed.). Jakarta: EGC;2004.