

Pengaruh Pendedahan Morfin Terhadap Perilaku Masa Prasapiah Mencit (*Mus musculus*) Swiss-Webster

Dewi Peti Virgianti, Hana Apsari Pawestri*

Sarjana Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran, Bandung

*Pusat Penelitian dan Pengembangan Pemberantasan Penyakit, Departemen Kesehatan RI, Jakarta

PENDAHULUAN

Morfin diperoleh dari opium yang merupakan getah buah *Papaver somniferum* muda yang dikeringkan. Opium tersebut mengandung lebih dari 20 alkaloid, terutama morfin. Pohon *P. somniferum* ditanam di seluruh dunia termasuk Eropa yaitu di bekas negara Yugoslavia Asia yaitu di Iran, Myanmar, Indo-China, India dan Pakistan serta di Amerika yaitu di Amerika Latin sampai Meksiko⁽¹⁾. Pada awalnya pohon ini dibudidayakan di negeri Arab untuk menghasilkan opium yang digunakan untuk obat disentri. Pada pertengahan abad ke-17 opium mulai masuk ke Eropa, dan pada abad ke-18 mulai populer digunakan sebagai rokok di Asia⁽²⁾.

Morfin pertama kali diisolasi pada tahun 1803 oleh seorang farmakolog Jerman Friedrich Serturmer untuk kepentingan pengobatan sebagai obat penghilang nyeri (*narcotic analgesic*) di dunia kedokteran dan sampai sekarang merupakan sumber analgesik utama yang belum bisa ditandingi. Setelah penemuan jarum dan *syringe* penggunaan morfin makin mudah, sehingga banyak terjadi penyalahgunaan fungsi morfin sampai menyebabkan kecanduan⁽³⁾.

National Household Survey on Drug Abuse (NHSA) di Amerika menemukan bahwa antara tahun 2000 - 2001 jumlah pecandu narkotik termasuk morfin di kalangan anak muda meningkat 1,1 % pada usia 12-17 tahun dan 2,7 % pada usia 18-25 tahun tetapi tidak ada perubahan yang signifikan pada usia di atas 26 tahun. Dilaporkan juga banyak di antaranya yang kemudian menderita sakit mental serius terutama pada perempuan⁽⁴⁾.

Penggunaan narkotik termasuk morfin di kalangan perempuan berisiko sangat tinggi, apalagi pada masa kehamilan. Penggunaan rokok, alkohol, atau obat terlarang pada masa kehamilan berpengaruh negatif pada anak yang dilahirkan⁽⁵⁾.

Morfin beraksi terutama di susunan saraf pusat sebagai

depresan dan stimulan. Morfin dapat melewati sawar plasenta (*placenta barrier*) sehingga dapat menyebabkan depresi pernafasan, miosis (kontraksi pupil) dan sindrom penghentian (*withdrawal syndrome*) pada bayi baru lahir⁽²⁾.

Oleh karena itu, sangatlah menarik untuk meneliti pengaruh morfin terhadap perkembangan otak anak yang dilahirkan dari ibu yang kecanduan, karena perkembangan otak anak sebelum lahir serta pada awal kehidupannya sangat rentan terhadap pengaruh beberapa zat asing. Zat asing (terutama zat toksik) tersebut dapat mempengaruhi perkembangan saraf di antaranya perubahan struktur sel, fungsi, migrasi, dan diferensiasinya, dan atau mempengaruhi proses pertumbuhan akson dan dendrit, mekanisme neurokimia, formasi sinap, dan mielinisasi⁽⁶⁾. Zat-zat toksik tersebut dapat menyebabkan kerusakan permanen pada perkembangan dan fungsi otak, yang mempengaruhi perilaku dan kemampuan belajar di kemudian hari. Hal tersebut dapat diuji dengan metode *neurobehavioral test* salah satunya adalah *behavioral test battery* (metode perilaku berurut), yang terdiri dari uji kemampuan refleks, sensorik, dan motorik pada bayi baru lahir sebelum masa sapiah.

Penelitian pengaruh pendedahan morfin terhadap perkembangan perilaku telah dilakukan. Morfin dengan tiga dosis berbeda, yaitu dosis rendah (10 mg/kgbb.), dosis sedang (35 mg/kgbb.), dan dosis tinggi (70 mg/kgbb.) disuntikkan pada tikus Sprague Dawley secara intraperitoneal (*i.p*) mulai umur kebuntingan 5-20 hari. Hasilnya menunjukkan keterlambatan pertumbuhan pada grup dengan dosis sedang walaupun untuk semua dosis pengaruhnya tidak dapat diamati secara visual⁽⁷⁾.

Penelitian lain⁽⁸⁾ mendedahkan morfin *i.p* pada tikus dengan dosis 20 mg/kgbb. yang kemudian ditingkatkan bertahap hingga 56 mg/kgbb. mulai 5 hari sebelum perkawinan sampai umur kebuntingan 16 hari. Hasilnya semua anakan memperlihatkan sindrom penghentian (*withdrawal syndrome*). Saat lahir, kondisi anakan rata-rata memiliki kemampuan

bernafas yang kurang baik, keterlambatan waktu terbukanya mata, dan kematangan seks yang terlalu awal pada betina.

BAHAN DAN METODA PENELITIAN

Rancangan penelitian dan analisis data

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental di laboratorium pada mencit Swiss-Webster menggunakan Rancangan Acak Lengkap (*completely randomized design*). Terdapat empat kelompok perlakuan yang terdiri dari tiga kelompok dosis perlakuan dan satu kelompok kontrol. Perkembangan perilaku anak mencit diamati mulai umur 5 hari (Post Natal Day-5) sampai 21 hari (PND-21) dengan metode Test Perilaku Berurut (*Behavioral Test Battery*) dengan 6 kali pengulangan (berdasarkan rumus Federer) untuk setiap kelompok perlakuan sehingga jumlah total mencit betina (dara) yang digunakan adalah 24 ekor.

Parameter yang diamati adalah persentase keberhasilan kemampuan refleksi, kemampuan motorik, kemampuan sensorik, dan berat badan. Data keberhasilan anak mencit pada refleksi membalikkan badan dan berat badan dianalisis dengan menggunakan uji ANAVA, jika hasilnya berbeda nyata dengan kontrol dilanjutkan dengan uji t-Dunnet. Data keberhasilan refleksi menghindari jurang dan geotaksis negatif, serta kemampuan motorik (berenang) dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis, jika hasilnya berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Multiple Comparison. Data persentase keberhasilan kemampuan motorik anak mencit (mengangkat badan dan anggota belakang) dan kemampuan sensorik (penglihatan, pendengaran, dan penciuman) masing-masing dianalisis secara deskriptif.

Bahan dan alat

Morfin yang digunakan dalam percobaan ini adalah morfin HCl injeksi, sedangkan mencit yang digunakan adalah mencit betina (dara) berumur 2-3 bulan dengan berat badan 25-35 gram. Mencit-mencit tersebut kemudian dipelihara dalam kandang dan diberi makan secara *ad-libitum*. Selanjutnya mencit betina yang telah diketahui dalam keadaan estrus disatukan dengan mencit jantan dewasa. Bila pada vulva mencit betina sudah terlihat sumbat vagina, maka hari tersebut dinyatakan sebagai hari ke-1 kebuntingan. Dari masing-masing mencit yang berfungsi sebagai inang, diambil 3 ekor anak untuk diuji.

Perlakuan Hewan Coba

Penentuan dosis disesuaikan dengan berat badan rata-rata mencit tiap kelompok. Dosis morfin yang digunakan yaitu 9,8 mg/kgbb./hari 5,6 mg/kgbb./hari; 2,8 mg/kg bb./hari dan satu kelompok kontrol. Pada umur kebuntingan 7-12 hari, terhitung dari mulai tampak sumbat vagina, induk mencit Swiss-Webster diberi suntikan secara *s.c* menggunakan alat suntik steril sekali pakai. Setelah melahirkan, berat badan anak-anak mencit ditimbang satu minggu sekali dan disiapkan untuk pengujian mulai umur 5 hari (PND-5) sampai 21 hari (PND-21)⁽⁹⁾. Dari tiap anakan dipilih perwakilannya sebanyak 3 ekor.

PENGUMPULAN DATA

A. Uji Kemampuan Refleksi

1. Refleksi Membalikkan Badan (*Surface Righting Reflex*)⁽⁹⁾

Uji ini dilakukan pada anak mencit berumur 5 hari. Anak mencit yang akan diuji diletakkan terlentang di tempat datar. Waktu yang diperlukan oleh anak-anak mencit untuk mengubah posisi dari posisi terlentang ke posisi telungkup dicatat dengan *stopwatch*.

2. Refleksi Menghindari Jurang (*Cliff Avoidance*)⁽¹⁰⁾

Pengamatan dilakukan pada anak mencit berumur 6 hari. Anak mencit yang akan diuji diletakkan di atas meja datar tangan dan hidung diletakkan sejajar di tepi meja tempat anak mencit itu berada. Kemudian diamati reaksi anak mencit dan dicocokkan dengan skor :

- Skor 0 : anak mencit bergerak maju dan menjatuhkan dirinya ke jurang
- Skor 1 : anak mencit diam saja di posisinya
- Skor 2 : anak mencit berhasil menghindari jurang dengan memutar posisi tubuhnya.

Laju keberhasilan dihitung dengan cara mengamati berapa persen anak mencit yang mampu menghindari jurang.

3. Refleksi Geotaksis Negatif (*Negative Geotaxis Reflex*)⁽¹⁰⁾

Pengamatan dilakukan pada anak mencit 7 hari. Anak mencit yang akan diuji diletakkan pada suatu tempat miring dengan sudut kemiringan 25°, kemudian diamati reaksinya dan dicocokkan dengan skor :

- Skor 0 : anak mencit tidak dapat menahan berat tubuhnya dan menukik turun ke bagian dasar tempat miring
- Skor 1 : anak mencit diam saja di posisinya
- Skor 2 : anak mencit berhasil menahan berat tubuhnya dan memutar posisi tubuhnya.

Laju keberhasilan dihitung dengan cara menghitung berapa persen yang berhasil menahan berat tubuhnya dan memutar posisi tubuhnya.

B. Uji Kemampuan Motorik

1. Perkembangan Kemampuan Berenang

Pengujian dilakukan terhadap anak mencit berumur 8, 10, 12 hari. Anak mencit tersebut dijatuhkan ke dalam bejana berisi air hangat (27-30°C), kemudian diamati gerakannya; hasil pengamatan dicocokkan dengan skor :

Posisi sudut kepala:

Skor 0 : menyelam

Skor 1 : hidung di atas permukaan air

Skor 2 : hidung dan kepala bagian atas berada di permukaan/ di atas permukaan air

Skor 3 : seperti pada skor 2, mata telah berada di atas permukaan air, daun telinga ¼-nya berada pada permukaan air.

Skor 4 : seperti pada skor 3, seluruh bagian daun telinga telah berada di atas permukaan air

Arah berenang :

Skor 1 : mengapung

Skor 2 : berenang melingkar

Skor 3 : berenang lurus atau mendekati lurus

Skor 4 : tenggelam

Penggunaan anggota badan:

Skor 1 : mengayuh dengan ke-4 anggota badan

Skor 2: mengayuh hanya dengan anggota belakang, anggota depan dalam posisi diam

Skor 3 : tanpa mengayuh

2. Perkembangan Kemampuan Mengangkat Badan dan Anggota Belakang

Pengujian dilakukan pada anak mencit mulai umur 7 hari sampai seluruh anak mencit yang diamati mampu mengangkat badan dan anggota belakangnya sehingga tidak terjatuh. Anak mencit yang akan diuji, tangannya diletakkan pada kawat dengan diameter 2 mm, panjang 20 cm yang direntangkan di antara 2 tiang kayu setinggi 30 cm. Kemudian diamati berapa persen anak mencit yang dapat menggenggam (*grasping*) dan mengangkat badan serta kakinya, sehingga tidak terjatuh.

C. Uji Kemampuan Sensorik

1. Perkembangan Kemampuan Penciuman

Pengamatan dilakukan terhadap anak mencit umur 21 hari. Anak mencit digenggam supaya diam, lalu hidungnya didekatkan ke batang kapas (*cotton bud*) yang telah dicelupkan ke dalam *cologne*. Hasil positif bila anak mencit menghindar dan negatif bila diam saja.

2. Perkembangan Kemampuan Penglihatan

Pengamatan dilakukan pada anak mencit mulai umur 7 hari sampai seluruh anak mencit yang diuji memberikan tanggapan positif terhadap uji ini. Anak mencit dipegang ujung ekornya dan didekatkan pada tongkat horizontal dan dijaga misainya tidak menyentuh tongkat. Hasil pengujian dinilai positif bila anak mencit yang diuji mampu meraih tongkat.

3. Perkembangan Kemampuan Pendengaran

Pengamatan dilakukan pada anak mencit mulai umur 7 hari sampai seluruh anak mencit yang diuji memberikan tanggapan positif terhadap uji ini. Tanggapan dinilai positif bila anak mencit tersentak pada saat kedua batang logam dipukulkan secara diam-diam di atasnya. Anak mencit yang belum mendapat giliran, harus dijauhkan dari tempat pengamatan agar tidak terbiasa (terhabituasi) dengan rangsangan bunyi yang akan diberikan.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan menunjukkan terdapat kelainan pada perilaku yang disebabkan oleh kerusakan otak dan tulang belakang. Selengkapnya data yang diperoleh adalah sebagai berikut :

A. Uji Kemampuan Refleks

Uji statistik (**Tabel 1**) menunjukkan bahwa kemampuan refleks anak mencit dalam uji membalikkan badan, menghindari jurang, dan geotaksis negatif berbeda nyata dengan kontrol pada dosis 5,6 mg/kgbb./hari dan 9,8 mg/kg bb./hari. Rata-rata refleks membalikkan badan anak mencit pada dosis tersebut jauh lebih cepat dibandingkan kontrol. Hal tersebut terjadi karena morfin yang didedahkan mempengaruhi sistem

motorik spinalis yang merupakan pengendali tonus otot skelet. Morfin ditemukan di terminal akson aferen primer substansia gelatinosa tulang belakang, dan juga di nukleus spinal nervus trigeminus⁽¹¹⁾. Thompson (2002) juga menemukan bahwa letak reseptor-reseptor opiat adalah di prosesus aksonal, yaitu di terminal saraf presinap. Keberadaan morfin tersebut meningkatkan pelepasan asetilkolin bebas yang menyebabkan peningkatan aktivitas spontan motorik⁽²⁾.

Tabel 1. Kemampuan Refleks Anak Mencit Umur 5,6,7 hari (n=18)

Jenis Uji	Dosis (mg/kg bb./hari)			
	0 (kontrol)	2,8	5,6	9,8
Refleks membalikkan badan (PND-5) Waktu (detik)	8,25±0,73	6,08±0,73	5,42±0,88*	3,47±0,52*
Reflek Menghindari Jurang (PND-6) Keberhasilan	100 %	100 %	67 %*	56 %*
Reflek Geotaksis Negatif (PND-7) Keberhasilan	100 %	100 %	67 %*	50 %*

Keterangan :

(*)= berbeda nyata dengan kontrol, PND=post natal day, rata-rata ± sd

Pada uji menghindari jurang ketidakberhasilan anak mencit ditunjukkan dengan sikap diam atau menjatuhkan diri ke jurang (meloncat). Hal tersebut karena morfin meningkatkan sintesis dopamin pada neuron-neuron dopaminergik yang tersebar di sistem limbik sehingga mempengaruhi kelabilan emosi dan menyebabkan depresi⁽²⁾. Selain itu, morfin juga meningkatkan produksi serotonin (5-HT) di nukleus rafe batang otak yang menyebabkan tingkah laku bunuh diri⁽¹³⁾. Kerusakan sistem penerimaan nyeri sejak masa kandungan dan pasca lahir akan menimbulkan sikap perusakan diri karena ingin merasakan nyeri, dengan cara meloncat, membakar diri, atau menabrakkan diri⁽¹⁴⁾. Sedangkan dalam uji geotaksis negatif ketidakberhasilan anak mencit ditunjukkan dengan sikap diam atau tidak bisa menahan berat tubuh sehingga anak mencit terus turun dengan posisi menukik menuju bawah bidang miring. Hal tersebut terjadi karena morfin menghambat motoneuron spinal, menyebabkan anggota gerak belakang terganggu⁽¹⁵⁾.

Tabel 2 menunjukkan bahwa pemberian morfin pada masa kebuntingan tidak berpengaruh pada sudut kepala dan penggunaan anggota gerak pada saat anak mencit berenang, tetapi berpengaruh terhadap arah berenang. Melingkarnya arah berenang anak mencit karena morfin mempengaruhi dan merusak sistem ekstrapiramidal. Sistem ekstrapiramidal [korteks serebrum basal ganglia yang terdiri dari *nucleus caudatus*, *nucleus lentiformis* dan *globus pallidus* merupakan pusat gerakan bawah sadar. Fungsinya antara lain memelihara posisi tubuh normal dan mengatur tonus otot⁽¹⁶⁾. Morfin juga dapat menghambat dan mengeksitasi sel Purkinje di otak kecil. Otak kecil merupakan pusat pemelihara keseimbangan serta pengatur gerakan sehingga arah berenang menjadi melingkar.

B. Uji Kemampuan Motorik
1. Perkembangan Kemampuan Berenang

Tabel 2. Perkembangan Kemampuan Berenang Anak Mencit (PND-8,10,12)

Jenis Uji	Dosis (mg/kg BB/hari)															
	0 (Kontrol)				2,8				5,6				9,8			
	Skor				Skor				Skor				Skor			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
PND-8 -Sudut -Arah -Penggunaan anggota badan	18	12	6	18	18	16	2	18	18	16	2	18	18	13	5	18
PND-10 -Sudut -arah -Penggunaan anggota badan	18	3	15	18	18	4	14	18	18	6	12	18	18	10	8	18
PND-12 -Sudut -arah -Penggunaan anggota badan	18		18	18	18		1	18	18	5*	13*	18	18	6*	12*	18

Keterangan :
 (*) = berbeda nyata dengan kontrol, PND=post natal day

2. Perkembangan Kemampuan Mengangkat badan dan Anggota Belakang

Tabel 3. Persentase keberhasilan anak mencit dalam uji kemampuan mengangkat badan pada tiap dosis (%)

Dosis	Hari							
	7	8	9	10	11	12	13	14
Kontrol	0	0	0	11	44	50	83	100
2,8 mg/kg bb/hari	0	5.6	11	22	44	89	100	100
5,6 mg/kg bb/hari	0	17	28	50	61	100	100	100
9,8 mg/kg bb/hari	0	22	39	56	72	100	100	100

Tabel 3 menunjukkan peningkatan persentase kemampuan mengangkat badan dari hari ke hari pada semua perlakuan, keberhasilan mengangkat badan terjadi lebih awal pada anak mencit yang diberi morfin di antaranya memanjat⁽²⁾.

C. Uji Kemampuan Sensorik

Tabel 4. Perkembangan Kemampuan Sensorik Anak Mencit (n=72)

Jenis Uji	Dosis (mg/kg bb./hari)			
	0 (Kontrol)	2,8	5,6	9,8
Uji Penglihatan				
- PND-14	61 %	50 %	50 %	44 %
- PND-15	100 %	100 %	100 %	100 %
Uji Pendengaran				
- PND-13	56 %	56 %	61 %	56 %
- PND-14	89 %	94 %	89 %	89 %
- PND-15	100 %	100 %	100 %	100 %
Uji Penciuman				
- PND-21	100 %	100 %	100 %	100 %

Pengamatan deskriptif memperlihatkan tidak satupun yang berbeda dengan kontrol. Hal tersebut terjadi karena morfin tidak merusak korteks sensorik serebrum karena di daerah itu tidak terdapat reseptor opiat. Selain itu, pemberian morfin dilakukan pada saat neurulasi, saat organ belum terbentuk sehingga morfin tidak mengganggu pembentukan organ-organ sensorik.

Tabel 5. Rata-rata perkembangan berat badan anak mencit PND-4,7,14,21

Dosis	Berat badan (g)				
	PND-1	PND-4	PND-7	PND-14	PND-21
Kontrol	1.46	2.94	4.50	6.84	10.37
2,8 mg/kgbb./hari	1.51	3.01	4.53	6.61	10.02
5,6 mg/kgbb./hari	1.32	2.61	4.03	5.93	9.31
9,8 mg/kgbb./hari	1.24	2.46	3.83	5.67	8.91

Uji statistik data tabel 5 menunjukkan berat badan anak mencit berbeda nyata dengan kontrol pada dosis 5,6 mg/kgbb./hari dan 9,8 mg/kgbb./hari. Ini berarti morfin dapat lebih menurunkan berat badan dibandingkan dengan kontrol. Morfin berpengaruh langsung menghambat pertumbuhan fetus, selain itu zat asing selain morfin dapat menyebabkan malnutrisi karena mengganggu aliran darah yang menuju fetus sehingga menghambat pertumbuhan dan berat badan fetus⁽¹⁷⁾.

KESIMPULAN

1. Pemberian morfin dosis subletal pada masa kebuntingan menyebabkan penyimpangan perilaku masa prasapah dan penurunan berat badan anak mencit Swiss-Webster. Penyimpangan yang berbeda nyata dengan kontrol ditemukan pada uji refleks (membalikkan tubuh, menghindari jurang, dan geotaksis negatif) dan pada uji motorik (kemampuan berenang dan mengangkat anggota

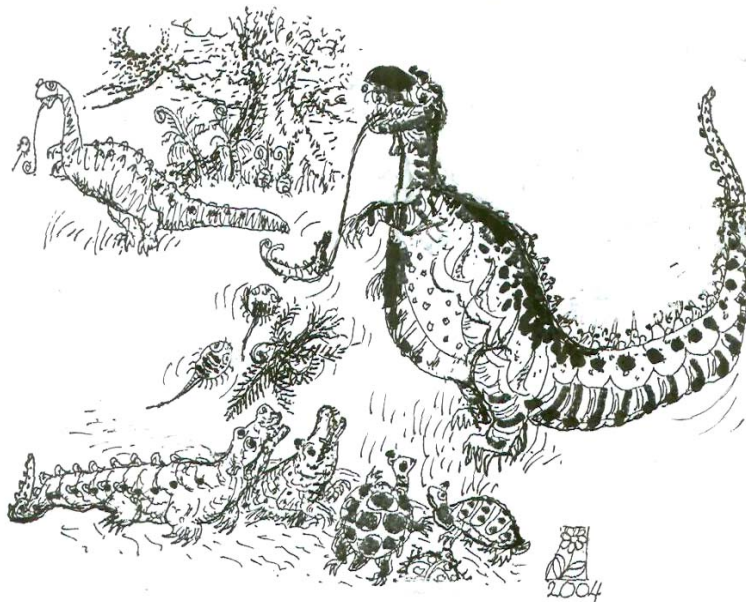
- badan), sedangkan pada uji sensorik tidak berbeda nyata.
2. Penyimpangan perilaku yang ditimbulkan tergantung besar dosis. Pada penelitian ini yang berbeda nyata dengan kontrol adalah pada dosis 9,8 mg/kgbb./hari dan 5,6 mg/kg bb./hari; pada dosis 2,8 mg/kgbb./hari tidak berbeda nyata.

SARAN

Perlu dilakukan pengamatan lanjutan terhadap kemampuan belajar dan memori serta analisis jaringan bagian otak yang diduga rusak pada mencit dewasa (PND-60).

KEPUSTAKAAN

1. Razak AMD. Kumpulan Dadah Narkotik. Article. (<http://www.prn.usm.my>) . 1995
2. Pradhan S, Dutta S. Drug Abuse. Clinical and Basic Aspect. CV. Mosby Co. St Louis. 1997
3. Hamilton GR, Baskett TF. In the Arms of Morpheus: the Development of Morphine for Postoperative Pain Relief. *Anesthesiol.* 2000; (April) 47 (4) : 367
4. Young L. Use of Marijuana, Cocaine, Pain Relievers and Tranquilizers Increased According to National Household Survey on Drug Abuse. Report Article. (<http://www.samsha.gov>). 2002
5. Ahluwalia I. Multiple Lifestyle and Psychological Risk and Delivery of Small for Gestational Age Infant. *Obstetr. Gynecol.* 2001;97(5).
6. Association of Canada. Resolution : The Need for Federally Mandate Developmental Neurotoxicity Testing to Protect Human Health: Central Nervous System Development. (<http://www.Idac-taac.ca>).1994
7. Fujinaga M. Teratogenic and Postnatal Developmental Studies of Morphine in Sprague Dawley Rats. *Teratology* 1998; 38 (5): 401-410
8. Lapointe G, Nasal G. Morphine treatment During Rat Pregnancy: Neonatal & Prewearing consequences. *Biology Neonate J.* 1982;42 (1-2): 22-30
9. Turner AR. Screening Methods in Pharmacology. Academic Press. New York.1965
10. Grabow ST, Dougherty MP..Cervicomedullary Intrathecal Injection of Morphine Produces Antinociception in The Orafacial Formalin Test in The Rats. *Anaesthesiol.* .2001; 95: 1427-1434
11. Anonim.Cerebrum and Cerebellum-The Secret of The Central Nerve. <http://www.okmedi.net>.2001.
12. Thompson TG. Recovery Month/ The National Household Survey on Drug Abuse. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)2002
13. Dalpiaz A. et al. Thermodynamics of Serotonin Receptor Interaction. John Wiley & Sons. Ltd. Italy. 2001
14. Anand KJ, Scalzo FM.. Can Adverse Neonatal Experiences Alter Brain Development and Subsequent Behaviour?. *Biology of Neonate J.* 2000;77 (2): 69-82
15. Kakinohana M. et al. Intrathecal Administration of Morphine, but not Small dose, Induced Spastic Paraparesis After a Noninjurious Interval of Aortic Occlusion in Rat. *Anaesthes. Analges.* 2003; 96
16. Mustcher E. Dinamika Obat. Ed. 5. Terj: MB. Widiarto & AS Ranti. Penerbit ITB. Bandung.1991
17. Wierrother H et. al. Intrauterine Blood Flow and Long-Term Intellectual, Neurologic, and Social Development. *Obstetr. Gynecol.* .2001.60 : 108-114



Kura – kura dan buaya adalah dua diantara binatang purba yang masih tersisa bisa selamat tidak dihabisi.....Dinosaurus