

Correlation of Serology Test Result Against Leptospira Sp. to The Representation of Histopathological Lesions on The Cattle Kidney

by Asih Rahayu

Submission date: 19-Jan-2022 07:59PM (UTC+0700)

Submission ID: 1744103333

File name: esions_on_The_Cattle_Kidney_Hubungan_Hasil_Uji_Serologis_Lep.pdf (817.5K)

Word count: 2778

Character count: 17284



Correlation of Serology Test Result Against *Leptospira* sp. to The Representation of Histopathological Lesions on The Cattle Kidney

Hubungan Hasil Uji Serologis *Leptospira* sp. dengan Representasi Lesi Histopatologis pada Ginjal Sapi

Asih Rahayu*, Yos Adi Prakoso, Kurnia Desiandura

9

Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, Jl. Dukuh Kupang XXV No. 54 Dukuh Kupang, Kec. Dukuh Pakis, Surabaya, 60225, Jawa Timur, Indonesia. Tel.: (031) 5677577

Leptospirosis is an eminent diseases among human and animal health. As a zoonosis disease, the occurrence of leptospirosis is not clearly understood in [26]. Furthermore, the lesion caused by *Leptospira* sp. is not well demonstrated. This study aimed to analyze the correlation between the result of serological test using microscopic agglutination test (MAT) and the representation of histopathological lesion in kidney from the cattle. This study used 28 samples consist of cattle serum and kidney organs. The serum was tested using MAT and kidney was tested using histopathology. The data was reported semi quantitatively and tested using Spearman test. The result showed that there is no correlation between the result of serological test to the representation of histopathological lesion from the kidney of cattle [33] is supported by the coefficient correlation (0,05) and probability value $p=0.78$ ($p \geq 0.05$). In conclusion, the result of *Leptospira* sp. serological test either seropositive or seronegative uncorrelated to the representation of histopathological lesion from the cattle kidney.

Keywords: cattle, correlation, histopathology, leptospirosis, microscopic agglutination test

OPEN ACCESS
ISSN 2580-7730 (online)
Edited by:
Andika Aliviameta

Reviewed by:
Ellies Tunjung Sari Maulidiyanti

**Correspondence:*
Asih Rahayu
asihrhya24@gmail.com

Received: 23 Mei 2021

Accepted: 25 Juni 2021

Published: 31 Juli 2021

Citation:

Rahayu A, Prakoso YA, and Desiandura K (2021)

*Correlation of serology test result against *Leptospira* sp. to the representation of histopathological lesions on the cattle kidney*
Medicra (Journal of Medical Laboratory Science/Technology).
4:1.

doi: 10.21070/medicra.v4i1.1405

Leptospirosis merupakan salah satu penyakit bakterial penting. Pada hewan kejadian leptospirosis masih belum diketahui secara jelas, padahal leptospirosis merupakan salah satu penyakit zoonosis. Lesi patologis yang ditimbulkan oleh *Leptospira* sp. juga masih belum diketahui secara jelas. Tujuan penelitian untuk melihat hubungan hasil uji serologis *Leptospira* sp. dengan representasi lesi histopatologis yang ditimbulkan pada ginjal sapi. Penelitian ini menggunakan sampel serum dan organ ginjal sapi sebanyak masing-masing 28 buah. Sampel serum diuji dengan microscopic agglutination test (MAT) dan sampel ginjal diuji dengan histopatologi. Hasil berupa data kualitatif yang diubah ke dalam bentuk semi kuantitatif. Data selanjutnya dianalisa menggunakan uji korelasi Spearman. Hasil menunjukkan bahwa tidak ada hubungan antara hasil uji serologis *Leptospira* sp. dengan represen-

tasi lesi histopatologis yang ditimbulkan pada ginjal sapi. Hal ini ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi Spearman sebesar 0,05 dengan $p=0,78$ ($p\geq0,05$). Dapat disimpulkan bahwa hasil uji serologi *Leptospira* sp. baik seropositif maupun seronegatif tidak terkait dengan representasi(ada tidaknya) lesi histopatologis yang timbul pada ginjal sapi.

Kata Kunci: histopatologi, korelasi, leptospirosis, microscopic agglutination test, sapi

PENDAHULUAN

Leptospirosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Leptospira* sp. Leptospirosis merupakan salah satu penyakit zoonosis yang dapat ditransmisikan dari hewan ke manusia [Bharti et al. \(2003\)](#). Sumber penularan utama dari leptospirosis adalah kontak dengan sekreta urin dari tikus. Tikus merupakan salah satu reservoir alami yang mampu mentransmisikan *Leptospira* sp. Hal ini membuat kejadian leptospirosis banyak terjadi di daerah perkotaan yang padat penduduk dan rendah sanitasi. Selain itu kejadian leptospirosis juga dilaporkan dapat terjadi pada wilayah pertanian dan peternakan [Galan et al. \(2021\)](#).

Salah satu hasil peternakan penting di Indonesia yaitu daging sapi. Sistem pemeliharaan sapi di Indonesia yang masih konvensional dengan rendahnya sanitasi lingkungan membuat tingginya kejadian penyakit. *Leptospira* sp. diduga terlibat sebagai salah satu penyakit penting yang terjadi di wilayah peternakan [Favero et al. \(2017\)](#). Meskipun demikian, masih belum banyak pelaporan dan survei mengenai kejadian leptospirosis pada sapi di Indonesia. Sehingga banyak referensi yang mengemukakan bahwa perlu dilakukan deteksi dini menggunakan pengujian standar yang menganalisis ada tidaknya infeksi *Leptospira* sp. pada ternak sapi [Schafbauer et al. \(2019\)](#).

Standar pengujian leptospirosis yang ditetapkan oleh *Office International des Epizooties* (OIE) adalah dengan menggunakan *microscopic agglutination test* (MAT). MAT merupakan salah satu jenis uji serologi yang peka untuk mendeteksi leptospirosis. Hasil uji MAT dilaporkan dengan seropositif atau seronegatif [Chirathaworn et al. \(2014\)](#). Sayangnya, hanya dengan uji serologi tidak dapat diketahui secara jelas mekanisme pathogenesis dari kejadian leptospirosis yang terkait dengan manifestasinya pada organ predileksi. Organ predileksi *Leptospira* sp. adalah ginjal. Salah satu alat diagnostika untuk mendeteksi perubahan organ dan jaringan adalah histopatologi rutin. Histopatologi rutin dilakukan dengan menggunakan pengecatan hematoxilin dan eosin (H&E) [Li et al. \(2018\)](#).

Berdasarkan uraian di atas maka, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara hasil uji serologi dengan MAT dengan uji representasi (ada dan tidaknya) perubahan histopatologi pada organ ginjal sapi.

METODE

[20](#)

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Hewan Coba, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia. Koleksi sampel serum dilakukan di bawah supervisi dokter hew*[34](#)* yang terkait. Semua kegiatan selama penelitian dipantau oleh Komisi Etik Penelitian Hewan Coba, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada.

Penelitian dilaksanakan selama bulan Desember 2020 sampai dengan Maret 2021. Sampel serum dan ginjal sapi

penelitian diperoleh dari Rumah Potong Hewan Krian, [22](#) oarjo, Jawa Timur. Uji MAT terhadap sampel serum dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas [W₁₈](#)ya Kusuma Surabaya. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Departemen Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada.

Penelitian ini menggunakan sampel serum dan organ ginjal sapi sebanyak masing-masing 28 buah. Sampel yang digunakan merupakan sampel berpasangan. Setiap ekor sapi diambil serumnya melalui vena jugularis, sedangkan sampel ginjal diambil pasca sapi disembelih. Sampel serum ditampung dalam tabung dan sampel ginjal disimpan di dalam formalin 10%.

Sampel serum sapi dimasukkan ke dalam *micro plate* dan dicuci menggunakan *phosphate buffer saline* (PBS) dengan perbandingan 1 : 20. Selanjutnya, setiap sampel dipindahkan dari sumuran ke satu sampai sumuran ke 12 dengan memindahkan serum sebanyak 50 μ L. Setiap sumuran selanjutnya ditambahkan antigen *Leptospira* sp. sebanyak 50 μ L. Campuran sampel dan antigen didiamkan selama 2 jam dalam inkubator dengan suhu 37°C. Setiap sampel diambil sebanyak 1,3 μ L dan diletakkan di permukaan gelas obyek. Sampel diamati menggunakan mikroskop medan gelap. Hasil pemeriksaan dilaporkan dalam bentuk kualitatif positif (+) dan negatif (-) [Chirathaworn et al. \(2014\)](#).

Sampel organ ginjal yang telah disimpan dalam formalin 10% selama 24 jam selanjutnya didehidrasi dengan xilol dan alkohol bertingkat masing-masing selama 1 jam. Sampel diimpregnasi dengan menggunakan parafin cair selama 4 jam. Sampel di blok dengan parafin dan dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 μ m. Sampel selanjutnya dicat dengan menggunakan pengecatan hematoksilin dan eosin [Feldman and Wolfe \(2014\)](#). Sampel selanjutnya diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya. Hasil pengamatan dilaporkan dalam bentuk skor + (ada perubahan patologi) dan - (t₃₉ ada perubahan patologi).

Data yang diperoleh berupa data kualitatif yang diubah ke dalam bentuk semi kuantitatif. Data diuji menggunakan uji korelasi Spearman dengan probabilitas 0,05. Hasil analisa statistik selanjutnya dibahas secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 8 sampel dari total 28 sampel serum menunjukkan hasil seropositif. Sedangkan, sebanyak 6 sampel menunjukkan adanya lesi histopatologis yang sifatnya minimal. Beberapa jenis lesi histopatologis yang terobservasi di antaranya adalah nefritis interstitialis (6/6), hemoragi (2/6), dan fibrosis (1/6). Sampel lainnya tidak menunjukkan perubahan histopatologi (Tabel 1).

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa sebanyak 2 sampel positif *Leptospira* sp. menunjukkan adanya lesi histopatologis, namun dari 6 sampel positif lainnya memperlihatkan bahwa tidak ditemukan adanya lesi histopa-

tologis. Lesi tidak spesifik lainnya juga diidentifikasi dari sampel dengan hasil seronegatif. Sedangkan, sampel lainnya menunjukkan hasil seronegatif tanpa perubahan histopatologi (Tabel 2).

TABEL 1. Lesi Histopatologis yang Terobservasi dari Seluruh Sampel Ginjal Sapi

Lesi	Jumlah
Nefritis interstitialis	6/28
Hemoragi	2/28
Fibrosis	1/28
Tidak ada perubahan	22/28

TABEL 2. Perbandingan Hasil Uji Serologi *Leptospira* Sp. dan Lesi Histopatologis Ginjal Sapi

Pengujian	Histopatologi		Total
	+	-	
MAT	2	6	8
-	4	16	20
Total	6	22	28

TABEL 3. Korelasi Hasil Uji Serologi *Leptospira* Sp. dengan Ada Tidaknya Lesi Histopatologis pada Ginjal Sapi

Pengujian	N	Koefisien korelasi	P
MAT	28	0,05	0,78
Histopatologi	28		

Hasil analisa statistik dengan uji Spearman memperlihatkan bahwa tidak ada suatu hubungan antara hasil uji MAT dengan uji histopatologi. Hal ini ditunjukkan dengan hasil seropositif dan seronegatif yang tidak terkait dengan representasi (ada dan tidaknya) perulangan histopatologi pada ginjal sapi. Hasil uji Spearman dapat dilihat pada Tabel 3.

Tidak adanya hubungan antara hasil uji serologi menggunakan MAT dengan representasi uji histopatologi menunjukkan bahwa lesi yang disebabkan oleh *Leptospira* sp. tidak selalu menimbulkan lesi jaringan. Hal ini terkait dengan mekanisme pathogenesis penyakit yang timbul pada sapi.

Leptospirosis yang merupakan bentuk infeksi bakterial akut yang dapat terjadi melalui kontak langsung dengan semua benda yang terkontaminasi. Leptospirosis menimbulkan peningkatan respon imunologis yang tinggi seketika pasca invasi De Brito et al. (2018). Pada manusia, kejadian leptospirosis menimbulkan kerusakan jaringan sistemik yang melibatkan beberapa organ penting di antaranya vasculitis, hepatitis, pneumonia, miokarditis, dan nefritis. Keradangan multi sistemik yang terjadi tersebut dikenal sebagai sindrom Weil Goris et al. (2013). Sebaliknya, kejadian leptospirosis pada hewan dapat berlangsung kronis. Hal ini membuat hewan yang terinfeksi *Leptospira* sp. dapat berperan sebagai vektor dan sumber penularan Bharti et al. (2003).

Pasca kontak dengan benda yang terkontaminasi, bakteri masuk ke dalam pembuluh darah melalui feses oral maupun jaringan kulit yang ter abrasi. *Leptospira* sp. selanjutnya

bersirkulasi dalam pembuluh darah dan menuju ke organ target yaitu pada tubulus proksimal ginjal penderita. Pada tubulus proksimal ginjal, *Leptospira* sp. membentuk biofilm dan memicu destruksi jaringan khususnya *brush border*. Hal yang membedakan kejadian infeksi *Leptospira* sp. pada hewan dan manusia adalah patogenitasnya dalam menimbulkan lesi multi sistemik. Kecepatan *Leptospira* sp. dalam menimbulkan lesi jaringan pada hewan cenderung lebih lama. Hal ini disebabkan oleh respon imunologis tubuh hewan yang mampu menekan pembentukan biofilm bakteri Haake and Levett (2015).

Respon imunologis yang timbul pada hewan mendorong *Leptospira* sp. untuk masuk ke dalam jaringan demi menghindari penghancuran oleh sistem imun. *Leptospira* sp. membentuk koloni dalam jaringan dan secara perlahan lepas kembali ke dalam sistem sirkulasi. Tingginya koloniasi dan jumlah bakteri bersirkulasi membuat sistem imun tidak mampu menekan perkembangan *Leptospira* sp. Hal ini selanjutnya membuat infeksi persisten terutama pada hewan yang menjadi hospes definitif maupun hospes aksidental. Mekanisme septisemia tersebutlah yang membuat *Leptospira* sp. dapat ditemukan melalui pengujian MAT dalam serum. Ketika *Leptospira* sp. telah ditemukan dalam serum dan terdeteksi oleh uji MAT maka diduga bahwa kejadian infeksi telah berlangsung sub akut atau bahkan kronis Eric Klasen and Adler (2015).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa meskipun *Leptospira* sp. terdeteksi dalam serum, namun tidak selalu timbul lesi histopatologis yang spesifik terhadap adanya kejadian leptospirosis. Hal ini dibuktikan dengan sedikitnya sampel yang positif leptospirosis dan positif ditemukan adanya lesi histopatologis. Sebaliknya, ditemukan lebih banyak lesi histopatologis yang timbul pada ginjal sapi tanpa disertai kejadian infeksi *Leptospira* sp. sehingga terjawab bahwa lesi histopatologis yang disebabkan oleh leptospirosis bervariasi pada setiap penderita. Ada penderita yang menunjukkan sinergisme antara hasil serologis dengan MAT dan lesi histopatologis yang timbul, dan ada juga yang tidak sinergis.

Jumlah antigen bersirkulasi juga mempengaruhi tingkat keparahan. Semakin besar jumlah *Leptospira* sp. bersirkulasi maka semakin tinggi juga lesi yang ditimbulkan Vincent, 2016). Selain itu, banyak faktor lain yang terlibat dalam penelitian ini di antaranya adalah usia hewan yang bervariasi dan tidak seragam, asal hewan, jenis serovar yang menginfeksi, jumlah bakteri dalam organ, serta sistem imunologis hewan. Selain itu proses pengambilan sampel histopatologi juga menjadi faktor penentu dalam kesesuaian antara hasil uji serologis dengan MAT dan lesi histopatologis yang timbul.

Keterbatasan pengambilan sampel histopatologis membuat semakin minimal lesi yang dapat terobservasi. Meskipun secara makroskopis nampak adanya lesi dari beberapa indikator seperti warna, konsistensi, dan ukuran, namun hal ini tidak menentukan ada tidaknya lesi yang terobservasi. Sehingga, perlu dilakukan pengambilan sampel

ginjal dan serum yang lebih besar demi mencegah timbulnya bias yang massif dalam hasil pengujian jika akan dilakukan penelitian lebih lanjut.

15

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat hubungan antara hasil uji serologis *Leptospira* sp. dengan menggunakan uji MAT dengan representasi lesi histopatologis yang timbul pada ginjal sapi. Perlu dilakukan pengambilan sampel serum dan ginjal yang lebih besar demi mencegah terjadinya bias dalam hasil penelitian dan untuk lebih merepresentasikan kesesuaian antara hasil uji MAT dan histopatologi.

KONTRIBUSI PENULIS

Penulis pertama berperan utama dalam pengumpulan data, sedangkan penulis kedua dan ketiga membantu dalam penyusunan artikel.

PENDANAAN

Sebagian penelitian ini didanai melalui Hibah Internal tahun 2021, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.

29

UCAPAN TERIMA KASIH

Pene²⁷ mengucapkan terima kasih kepada seluruh tenaga staf Laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada atas bantuan mereka dalam pemrosesan jaringan.

REFERENSI

- Bharti, A. R., Nally, J. E., Ricaldi, J. N., Matthias, M. A., Diaz, M. M., Lovett, M. A., Levett, P. N., Gilman, R. H., Willig, M. R., C¹⁴zo, E., Vinetz, J. M., & Peru-United States Leptospirosis Consortium. (2003). Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet. Infectious diseases*, 3(12), 757–771. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(03\)00830-2](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(03)00830-2).
- Chirathaworn, C., Inwattana, R., Poovorawan, Y., & Suwancharoen, D. (2014). Interpretation of microscopic agglutination test for leptospirosis diagnosis and seroprevalence. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4(Suppl 1), S162–S164. <https://doi.org/10.1270/APJTB.4.2014C580>.
- De Brito, T., Silva, A., & Abreu, P. (2018). Pathology and pathogenesis of human leptospirosis: a commented review. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 60, e23. <https://doi.org/10.1590/s1678-9946201860023>.
- Erik Klaasen, H. L., & Adler, B. (2015). Recent advances in canine leptospirosis: focus on vaccine development. *Veterinary medicine (Auckland, N.Z.)*, 31, 245–260. <https://doi.org/10.2147/VMRR.S59521>.
- Fávero, J. F., de Araújo, H. L., Lilienbaum, W., Machado, G., Tonin, A., Baldissera, M. D., Stefanini, L. M., & Da Silva, A. S. (2017). Bovine leptospirosis: Prevalence, associated risk factors for infection and their 32-kDa-effect relation. *Microbial pathogenesis*, 107, 149–154. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.03.032>.
- Feldman, A. T., & Wolfe, D. (2014). Tissue processing and hematoxylin and 21-euth staining. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)*, 1180, 31–43. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1050-2_3.
- Gala¹² D. I., Roess, A. A., Pereira, S., & Schneider, M. C. (2021). Epidemiology of human leptospirosis in urban and rural areas of Brazil, 36(1)-2015. *PLoS one*, 16(3), e0247763. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247763>.
- Goris, M. G., Kikken, V., Straetemans, M., Alba, S., Goeijenbier, M., van Gorp, E. C., Boer, K. R., Wagenaar, J. F., & Hartskeerl, R. A. (2013). Towards the burden of human leptospirosis: duration of acute illness and occurrence of post-ilep⁴⁰rosis symptoms of patients in the Netherlands. *PLoS One*, 8(10), e76549. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076549>.
- Haake, D. A., & Levett, P. N. (2015). Leptospirosis in humans. *Current topics in microbiology and immunology*, 387, 65–97. https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8_5.
- Li, Y., Li, N., Yu, X., Huang, K., Zheng, T., Cheng, X., Zeng, S., & Liu, X. (2018). Hematoxylin and eosin staining of intact tissues via delipidation and ultrasound. *Scientific reports*, 8(1), 12259. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30755-5>.
- Schafbauer, T., Dreyfus, A., Hog⁸ B., Rakotozandrindrainy, R., Poppert, S., & Straubinger, R. K. (2019). Seroprevalence of *Leptospira* spp. Infection in Cattle from Central and Northern Madagascar. *International journal of environmental research and public health*, 16(11), 2014. <https://doi.org/10.3390/ijerph16112014>.
- Vincent, J. L. (2016). The Clinical Challenge of Sepsis Identification and Monitoring. *PLoS medicine*, 13(5), e1002022. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002022>.
- Conflict of Interest Statement:** The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.
- Copyright © 2021 Rahayu, Prakoso, and Desiandura. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

11

Correlation of Serology Test Result Against Leptospira Sp. to The Representation of Histopathological Lesions on The Cattle Kidney

ORIGINALITY REPORT



PRIMARY SOURCES

- | | | |
|---|---|-----|
| 1 | Hutman falih Chichan, Hussein kareem mohammed, Tariq Tawfeeq Yousif Alabdullah. "Does Environmental Management Accounting Matter in Promoting Sustainable Development? A study in Iraq", Journal of Accounting Science, 2021
Publication | 1 % |
| 2 | Submitted to University of Derby
Student Paper | 1 % |
| 3 | vip.ucaldas.edu.co
Internet Source | 1 % |
| 4 | Alex Boye, Desmond Omane Acheampong, Eric Ofori Gyamerah, Ernest Amponsah Asiamah et al. "Glucose lowering and pancreateo-protective effects of Abrus Precatorius (L.) leaf extract in normoglycemic and STZ/Nicotinamide – Induced diabetic rats", Journal of Ethnopharmacology, 2020
Publication | 1 % |

5	revistas.ces.edu.co Internet Source	1 %
6	Submitted to Liverpool John Moores University Student Paper	1 %
7	www.revistas.usp.br Internet Source	1 %
8	www.grafati.com Internet Source	1 %
9	e-journal.akpelni.ac.id Internet Source	1 %
10	Submitted to University of South Florida Student Paper	1 %
11	kanazawa-u.repo.nii.ac.jp Internet Source	1 %
12	Submitted to Riga Stradins University Student Paper	1 %
13	Submitted to Universidade de Fortaleza -- Fundação Edson Queiroz / Foundation Edson Queiroz Student Paper	1 %
14	Submitted to American Public University System Student Paper	1 %

fr.scribd.com

15	Internet Source	1 %
16	www.vanguardiaveterinaria.com.mx Internet Source	1 %
17	Angélica Consalter, Eraldo Lourenço Zanella, Gabriel Mendes de Souza Martins, Hugo Libonati de Araujo et al. "Seroprevalence of Leptospira spp. infection in sheep from northwest of Rio Grande do Sul, Brazil", Ciência Rural, 2019 Publication	1 %
18	garuda.kemdikbud.go.id Internet Source	<1 %
19	repository.upi.edu Internet Source	<1 %
20	repository.usd.ac.id Internet Source	<1 %
21	cmjournal.biomedcentral.com Internet Source	<1 %
22	ejurnal.undana.ac.id Internet Source	<1 %
23	journal.bio.unsoed.ac.id Internet Source	<1 %
24	portlandpress.com Internet Source	<1 %

25	www.bnitm.de Internet Source	<1 %
26	www.jisikworld.com Internet Source	<1 %
27	ejournal.unsrat.ac.id Internet Source	<1 %
28	eprints.poltekkesjogja.ac.id Internet Source	<1 %
29	journal.untar.ac.id Internet Source	<1 %
30	lpp.uad.ac.id Internet Source	<1 %
31	microbiol.elpub.ru Internet Source	<1 %
32	pubag.nal.usda.gov Internet Source	<1 %
33	revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe Internet Source	<1 %
34	Lailatul Muniroh, Santi Martini, Triska Susila Nindya, Rondius Solfaine. "Anti Inflammation Effects and Acute Toxicity of Jintan Leaves (<i>Plectranthus amboinicus</i>) Extract on Arthritis Induced Rats", Makara Journal of Health Research, 2013 Publication	<1 %

35	Ljiljana Perić, Danijel Šimašek, Jerko Barbić, Nikica Perić, Višnja Prus, Vladimir Šišljadić, Lada Zibar. "Human leptospirosis in eastern Croatia, 1969–2003: Epidemiological, clinical, and serological features", Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 2009 Publication	<1 %
36	doaj.org Internet Source	<1 %
37	hmkm.fkunud.com Internet Source	<1 %
38	id.123dok.com Internet Source	<1 %
39	journal.uny.ac.id Internet Source	<1 %
40	ojs.tdmu.edu.ua Internet Source	<1 %

Exclude quotes Off
Exclude bibliography Off

Exclude matches Off