

EFEK PEMBERIAN NATRIUM SIKLAMAT SECARA ORAL TERHADAP JUMLAH SEL MAKROFAG PERITONEAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus L.*)

Dina Kusuma Dewi, Suhariyadi, Evy Diah Woelansari
Jurusan Analis Kesehatan
Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya

ABSTRAK

Natrium siklamat merupakan bahan tambahan pangan berupa pemanis buatan yang awalnya hanya ditujukan untuk memenuhi ketersediaan produk makanan dan minuman bagi penderita diabetes dan orang yang diet kalori. Namun, penggunaan natrium siklamat lebih baik tidak dipergunakan lagi karena efek yang ditimbulkan oleh penggunaan yang terus menerus dapat merusak sistem kerja tubuh manusia. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui efek pemberian natrium siklamat secara oral terhadap jumlah sel makrofag peritoneal pada tikus putih (*Rattus norvegicus L.*).

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga pada bulan juni 2018 dengan menggunakan 25 ekor tikus putih jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok. Variasi dosis natrium siklamat yang diberikan adalah 4,5 mg/200g BB, 9,5 mg/200g BB, 14,5 mg/200g BB, dan 19,5 mg/200g BB dengan waktu pemberian selama 10 hari.

Pemeriksaan jumlah sel makrofag peritoneal pada penelitian ini menggunakan metode *haemocytometer*. Pada hasil uji *Kruskal-walis* didapatkan nilai signifikansi $p = 0,00$ ($p < 0,05$), yang artinya ada efek pemberian natrium siklamat secara oral terhadap jumlah sel makrofag peritoneal pada tikus putih (*Rattus norvegicus L.*).

Kata Kunci : Natrium siklamat, makrofag peritoneal, tikus putih (*Rattus norvegicus L.*).

PENDAHULUAN

Penggunaan bahan kimia sebagai bahan tambahan pada makanan dan minuman sangat sering dijumpai. Bahan Tambahan Pangan yang selanjutnya disingkat BTP adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan (Permenkes RI, 2012) dan salah satu bahan tambahan pangan adalah pemanis buatan.

Salah satu jenis pemanis buatan yang cukup populer di Indonesia adalah siklamat dan sakarin, dimana siklamat awal mulanya hanya ditujukan untuk memenuhi ketersediaan produk makanan dan minuman bagi penderita diabetes dan orang yang diet kalori. Namun, penggunaan siklamat sekarang ini sangat meluas karena harga yang lebih murah,

memberikan rasa manis tanpa rasa ikutan (*after taste*) dan memiliki tingkat kemanisan 30 kali gula. Rasa manis pada siklamat masih bisa dirasakan pada tingkat pengenceran 1 : 10 (dalam liter) (Praja, 2015). Siklamat bersifat mudah larut dalam air dan tahan terhadap panas (Wibowotomo, 2008).

Penggunaan siklamat yang aman atau *Acceptible Daily Intake* Natrium Siklamat adalah 0 – 11 mg/kg berat badan, sedangkan batas maksimal penggunaan (BMP) untuk manusia adalah 2000 mg/kg bb/hari (BPOM, 2014). Walaupun

penggunaan natrium siklamat diperbolehkan dan telah dibatasi, namun sering dilaporkan adanya penyalahgunaan dan penggunaan yang melebihi batas. Berdasarkan riset BPOM (2002) didapatkan hasil bahwa konsumsi siklamat sudah mencapai 240% *Acceptible Daily Intake* (ADI) (BPOM, 2004 dalam Setiawan, 2016). Di Kanada dan Amerika Serikat penggunaan natrium siklamat sudah tidak diperbolehkan (Cahyadi, 2012), sebab akan bersifat: (i) karsinogenik, (ii) dapat menyebabkan atropi (pengecilan testikular dan kerusakan kromosom).

Penelitian yang dilakukan oleh Utomo (2012) didapatkan hasil bahwa pemberian pemanis buatan per oral berpengaruh terhadap gambaran histopatologi (kelainan) pada jaringan hepar mencit jantan, dengan dosis 15 mg/KgBB, dan pemberian selama 30 hari dapat menyebabkan perubahan degenerasi, serta nekrosis sel hepar sebesar 35,72% yang menandakan adanya infeksi. Berdasarkan penelitian Aisyah (2003) dengan dosis pemberian natrium siklamat

(meningkat) dari sebesar 4,5 mg/200g BB, 9,5 mg/200g BB, 14,5 mg/200g BB, dan 19,5 mg/200g BB dapat meningkatkan jumlah leukosit (peningkatan ini karena adanya infeksi), menurunnya jumlah eritrosit karena meningkatnya radikal bebas dalam tubuh. Penelitian ini akan meninjau pengaruh pemberian natrium siklamat terhadap peningkatan jumlah sel makrofag.

Untuk mendapatkan makrofag, rongga peritoneal (rongga abdomen) merupakan tempat yang mudah untuk mendapatkan sebagian makrofag resident pada abdomen yang belum mengalami manipulasi (Zhang X, dkk., 2008 dalam Erna Susanti, dkk., 2015), dan dalam penelitian ini akan menggunakan sel makrofag yang sudah dimanipulasi dengan pemberian natrium siklamat dengan berbagai macam dosis Aisyah (2003) yang diuji coba ulang untuk mendapatkan respon imunitas berupa jumlah sel makrofag peritoneal pada tikus putih (*Rattus norvegicus L.*).

JENIS PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*, yaitu dengan mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok yang diteliti dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol tanpa dilakukan pre test sebelumnya.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2017 – Juni 2018. Pemeliharaan hewan uji dan

perlakuan dilakukan di Unit Pengembangan dan Penelitian Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Proses pemeriksaan jumlah makrofag peritoneal tikus dilakukan di Laboratorium Terpadu Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya.

Alat dan Reagen

Alat yang digunakan yaitu *haemocytometer*, *cover glass*, *sentrifuge*, *sput*, rak tabung, sonde, pipet mikro, *yellow tip*, mikroskop, pisau bedah, tabung falcon. Reagen yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah media RPMI, *tryphan blue*, *phosphate buffer saline*.

Bahan Uji, Hewan Coba dan Pemilihan Hewan Coba

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah natrium siklamat yang didapatkan dari toko bahan kue.

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) berjenis kelamin jantan dengan berat badan rata-rata 200 gram dan berusia kurang lebih dua bulan sebanyak dua puluh lima tikus. Pada penelitian ini dibutuhkan kandang tikus sebanyak lima kandang, sekam padi, pakan tikus, dan tempat minum. Setiap kandang berisi sebanyak lima ekor tikus putih, empat kandang untuk tikus yang diberi perlakuan pemberian natrium siklamat secara oral, dan satu kandang untuk tikus kelompok kontrol negatif.

PROSEDUR PENELITIAN **Penentuan Dosis Larutan Natrium Siklamat**

Menentukan dosis pemberian larutan natrium siklamat terhadap hewan uji coba tikus putih. Dosis yang diberikan pada hewan coba tikus putih adalah secara oral adalah 4,5 mg/200 g BB, 9,5 mg/200 g BB, 14,5 mg/200 g BB, dan 19,5 mg/200 g BB. Volume larutan yang diberikan secara oral sebanyak 2 mL merupakan volume yang boleh diberikan berdasarkan pada volume normal lambung tikus yaitu 3-5 mL. (Ngatidjan, 2006).

Adaptasi Hewan Coba

Adaptasi hewan coba dilakukan selama tujuh hari dengan hanya diberikan makan dan minum seperti biasa. Kandang hewan coba didesinfektan dengan alkohol 70 % setiap hari sejak dilakukan adaptasi sampai penelitian selesai.

Perlakuan Hewan Coba

Pada tahap ini menggunakan dua puluh lima ekor tikus putih yang sudah dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, satu kelompok kontrol negatif dengan pemberian aquades, kelompok perlakuan satu dengan pemberian natrium siklamat dengan dosis 4,5 mg/200 g BB, kelompok perlakuan dua dengan pemberian natrium siklamat dengan dosis 9,5 mg/200 g BB, kelompok perlakuan tiga dengan pemberian natrium siklamat dengan dosis 14,5 mg/200 g BB, dan kelompok perlakuan empat dengan pemberiannatrium siklamat dengan dosis 19,5 mg/200g BB. Waktu pemberian perlakuan dilakukan selama 10 hari.

Pengisolasian Makrofag Peritoneal

Pertama, menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan untuk pengisolasian makrofag. Kedua, membunuh tikus menggunakan kloroform. Ketiga, membuat irisan kecil pada bagian abdomen tikus. Keempat, merobek kulit bagian abdomen tikus hingga nampak rongga peritoneum. Kelima, memasukkan 10 mL medium RPMI. Keenam, menggoyang-goyangkan rongga peritoneum tikus selama \pm 3 menit. Ketujuh, mengaspirasi suspensi pada rongga peritoneum tikus dan meletakkan kedalam tabung steril. Kedelapan, mensentrifuse suspensi pada kecepatan 1200 rpm selama 10 menit dan membuang supernatan yang terbentuk. Kesembilan, menambahkan 3 mL medium RPMI yang mengandung 10% FBS kedalam tabung. Suspensi sel makrofag siap digunakan (Wijayanti, 1999).

Perhitungan Jumlah Sel Makrofag

Pertama, menyiapkan alat dan bahan yang digunakan untuk menghitung jumlah sel makrofag. Kedua, memipet 100 μ L suspensi sel makrofag dan 100 μ L pewarna *trypan blue* 0.08% kedalam tabung reaksi. Ketiga, menghomogenkan campuran suspensi sel dan pewarna dan memasukkan beberapa tetes kedalam *haemocytometer*. Keempat, menghitung jumlah makrofag pada lima kamar hitung pada kotak bagian tengah *haemocytometer*. Hasil penghitungan pada lima kotak kamar hitung kemudian dimasukkan kedalam rumus perhitungan *haemocytometer* sehingga didapat jumlah sel makrofag/mm³. Rumus perhitungannya adalah sebagai berikut (Wahyuni dkk, 2014) :

Volume Kamar Hitung (VKH) = 5
 $(1/5 \times 1/5 \times 0,1) = 1/50$
 Konsentrasi Pengenceran (CP) = 1 (perbandingan antara pewarna dan suspensi sel adalah 1:1)
 Jumlah sel makrofag / mm³
 $= 1/VKH \times 1/ CP \times \text{Jumlah sel makrofag dalam kamar hitung.}$

HASIL PENELITIAN

Data hasil penelitian jumlah sel makrofag peritoneal (sel/mm³)

Replikasi	Jumlah Sel Makrofag Peritoneal (sel/mm ³)				
	K (-)	P1	P2	P3	P4
1	100	200	250	300	300
2	150	100	300	350	450
3	100	150	200	300	400
4	100	100	250	300	400
5	150	150	200	250	350
X \pm SD	120 \pm 27,38	140 \pm 41,83	240 \pm 41,83	300 \pm 35,35	380 \pm 57,00

ANALISA DATA

Hasil yang didapatkan diolah dengan uji non parametrik *Kruskall Wallis* didapatkan nilai *significant* pada jumlahsel makrofag peritoneal

sebesar 0,00 ($p < = 0,05$) maka menunjukkan terdapat efek pemberian natrium siklamat terhadap jumlah sel makrofag peritoneal pada tikus putih (*Rattus norvegicus L.*).

PEMBAHASAN

Pada penelitian mengenai efek pemberian natrium siklamat secara oral terhadap jumlah sel makrofag peritoneal tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) telah didapatkan hasil dan dilakukan analisa data statistik. Pada hasil analisa data statistik yang menggunakan uji non parametrik *Kruskall Wallis* dapat diketahui bahwa nilai signifikansi $p = 0,00$ pada $\alpha = 0,05$ yang artinya adalah nilai signifikansi lebih kecil dari nilai alfa ($p < 0,05$), yang artinya terdapat efek pemberian natrium siklamat secara oral terhadap jumlah sel makrofag peritoneal tikus putih (*Rattus norvegicus L.*). berdasarkan hasil uji statistik tersebut dapat dikatakan bahwa pemberian natrium siklamat pada dosis 4,5 mg/200 gBB, 9,5 mg/200 g BB, 14,5 mg/200 g BB, dan 19,5 mg/200 g BB yang diberikan selama 10 hari dapat memberikan efek terhadap jumlah sel makrofag peritoneal pada tikus putih (*Rattus norvegicus L.*). Hal tersebut berhubungan dengan penelitian Aisyah (2003), yang didapatkan hasil bahwa pemberian berbagai macam dosis natrium siklamat dapat meningkatkan jumlah leukosit pada tikus putih (*Rattus norvegicus L.*).

Pada kelompok perlakuan satu yaitu tikus putih yang diberi perlakuan pemberian natrium siklamat secara oral dengan dosis 4,5 mg/200 g BB selama 10 hari, terdapat peningkatan jumlah sel makrofag apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang hanya diberi aquades. Natrium siklamat merupakan zat xenobiotik berupa bahan tambahan pangan yang masuk kedalam tubuh manusia. Menurut Drasar, tahun 1972, siklamat yang tidak diabsorpsi tubuh

akan diubah oleh mikroflora gastrointestinal menjadi senyawa sikloheksamin. Selanjutnya, Soemrat (2003) dalam Chori (2013) mengatakan bahwa senyawa sikloheksamin akan dibawa ke hepar melalui vena porta hepatica. Di hepar, terjadi metabolisme xenobiotik yang melibatkan sitokrom p-450 yang dapat memediasi produksi radikal bebas dengan cara mengkatalisis reaksi oksidasi atau reduksi substrat xenobiotik. Proses detoksifikasi oleh sitokrom p-450 tersebut akan menghasilkan radikal superoksida secara langsung mengubah O_2 menjadi O_2^- ataupun transfer elektron oleh substrat dari sitokrom ke molekul oksigen. Reaksi ini dengan sendirinya akan berlangsung secara terus menerus dan merupakan konsekuensi atas proses detoksifikasi toksin dalam tubuh. Kemampuan natrium siklamat yang dapat membentuk radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Selain itu, adanya radikal bebas di dalam tubuh dapat memengaruhi metabolisme makrofag dan mengaktifkan makrofag untuk melepaskan leukotrien B₄, IL-8, dan TNF- α . Peningkatan produksi IL-8 dapat menyebabkan terjadinya peningkatan leukosit, sehingga menimbulkan leukositosis. Menurut Soesilo (2012), pada keadaan leukositosis, makrofag yang merupakan mediator imunitas seluler akan berperan pada sistem respon imun bersama neutrofil. Sehingga pada keadaan tersebut terjadi peningkatan jumlah makrofag peritoneal. Makrofag merupakan sel monosit yang bermigrasi dari peredaran darah menuju jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag.

Selain itu, pada kelompok perlakuan dua, tiga, dan empat yang

diberi perlakuan pemberian natrium siklamat secara oral dengan dosis masing – masing 9,5 mg/200 g BB, 14,5 mg/200 g BB, dan 19,5 mg/200 g BB selama 10 hari juga terjadi peningkatan jumlah sel makrofag peritoneal. Peningkatan yang paling tinggi terdapat pada kelompok perlakuan empat dengan pemberian natrium siklamat dengan dosis 19,5 mg/200 g BB. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian natrium siklamat dapat memberikan efek terhadap jumlah sel makrofag peritoneal, selain itu dosis pemberian natrium siklamat yang meningkat seiring dengan jumlah sel makrofag peritoneal yang meningkat pula. Hal tersebut diakibatkan oleh semakin banyaknya natrium siklamat yang diberikan, maka terjadi pembentukan radikal bebas yang meningkat pula dan berakibat terhadap peningkatan jumlah sel makrofag peritoneal.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat efek pemberian natrium siklamat secara oral terhadap jumlah sel makrofag peritoneal pada tikus putih (*Rattus norvegicus L.*)
2. Jumlah rata – rata makrofag peritoneal pada tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) tanpa pemberian natrium siklamat secara oral adalah 120 sel/mm³.
3. Jumlah rata – rata makrofag peritoneal pada tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) pada pemberian natrium siklamat secara oral dengan dosis 4,5 mg/200 g BB adalah 140 sel/mm³.
4. Jumlah rata – rata makrofag peritoneal pada tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) pada pemberian natrium siklamat secara oral dengan dosis 9,5 mg/200 g BB adalah 240 sel/mm³.
5. Jumlah rata – rata makrofag peritoneal pada tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) pada pemberian natrium siklamat secara oral dengan dosis 14,5 mg/200 g BB adalah 300 sel/mm³.
6. Jumlah rata – rata makrofag peritoneal pada tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) pada pemberian natrium siklamat secara oral dengan dosis 19,5 mg/200 g BB adalah 380 sel/mm³.

SARAN

1. Bagi peneliti selanjutnya diharapkan dapat mengukur ekspresi sistem imun yang lebih spesifik yaitu mengukur aktifitas fagositosis sel makrofag, serta dapat menentukan *lethal dose* untuk penggunaan natrium siklamat.
2. Bagi masyarakat, walaupun penggunaan natrium siklamat diperbolehkan dan dibatasi oleh Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 033 Tahun 2012, namun lebih baik natrium siklamat tersebut tidak dipergunakan lagi karena efek yang ditimbulkan oleh penggunaan yang terus-menerus dapat merusak sistem kerja tubuh manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah, Riandini., Shanti, Listyawati., Tetri, Widiyani. (2003). *Efek Pemberian Natrium Siklamat Secara Oral terhadap Karakteristik*

- Hematologis Tikus Putih (Rattus norvegicus L.)*. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret. Surakarta. Volume 5. Nomor 2. 124-130. <http://biosmart.mipa.uns.ac.id/index.php/biosmart/article/viewFile/150/111>. Diakses pada 20 November 2017.
- Arifin, R., Jefri, Kurniawan., Muhammad, Rheza. (2015). *All New "D' CITI RAT": Inovasi, Revitalisasi dan Pengadaan pada "D' CITI RAT"*. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak. Kalimantan Barat. <http://artikel.dikti.go.id/index.php/PKMK/article/download/553/553>. Diakses pada 27 Februari 2018.
- Badan POM. (2014). *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 4 Tahun 2014 Tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pemanis*. Jakarta: Badan POM. Diakses melalui <http://jdih.pom.go.id/showpdf.php?u=zvJv%2F17FmuXO%2BAylyffygV1Pp6b9r9hX1MQ%2FSXVcH84%3D>. Pada 20 November 2017.
- Cahyadi, Wisnu. (2008). *Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Cahyadi, Wisnu. (2012). *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Penerbit Bumi Aksara.
- Chori, Finka Aidila Mifatusul. (2013). *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata L.) Terhadap Kadar Superoksida Dismutase (SOD) dan Malondialdehide (MDA) Hepar Mencit Betina (Mus musculus) Yang Diinduksi 7, 12-Dimetilbenz () Antrasen Secara In Vivo*. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Drasar, B. S., A. G. Renwick., R. T. Williams. (1972). *The Role of the Gut Flora in the Metabolism of Cyclamate*. Departments of Bacteriology and Biochemistry, St. Mary's Hospital Medical School. London. 129. 881-890. <https://pdfs.semanticscholar.org/c013/ff4bffe571ed755359b04d04b939be5b3150.pdf>. Diakses pada 5 Februari 2018.
- Droge, Wulf. (2002). *Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function*. Division of Immunochemistry, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg. Germany. 82. 47-95. <https://www.physiology.org/doi/pdf/10.1152/physrev.00018.2001>. Diakses pada 12 Juli 2018.
- Estiasih, Teti., Widya, D, R, Putri., Endrika, Widyastuti. (2015). *Komponen Minor dan Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Guyton, A. C., J. E. Hall. (2014). *Buku Ajar Fisiologi*

- Kedokteran*. Edisi 12. Jakarta: EGC.
- Kementerian Kesehatan. (2012). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 033 Tahun 2012 Tentang Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Diakses melalui <http://jdih.pom.go.id/produk/peraturan%20menteri/Permenkes%20ttg%20BTP.pdf>. Pada 20 November 2017.
- Kendran, Anak Agung Sagung., dkk. (2017). *Aktivitas Enzim Alanin-Aminotransferase dan Aspartat-Aminotransferase pada Tikus Putih Jantan yang Diberi Ekstrak Buah Pinang*. Veteriner Udayana. Universitas Udayana. Bali. Volume 9. Nomor 2. 132-138. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/buletinvet/article/view/31381/20118>. Diakses pada 1 Februari 2018.
- Kusumawati, Diah. (2004). *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Rodwell, V. W. (2009). *Biokimia Harper*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Ngatidjan., dkk. (2006). *Cara Kerja Ekstrak Etanol Biji Pisang (Musa balbisiana colla) sebagai Penghambat Sekresi Asam Lambung Tikus Putih In Vitro*. Tesis Program Pasca Sarjana. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. <http://i-lib.ugm.ac.id/jurnal/detail.php?dataId=9328>. Diakses pada 5 Februari 2018.
- Praja, Denny Indra. (2015). *Zat Aditif Makanan Manfaat dan Bahayanya*. Yogyakarta: Garudhawaca. Diakses melalui <https://books.google.co.id/books?id=MgiCCgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=siklamat+denny+indra+praja&hl=id&sa=X&ved=0ahUKEwjaz5Gjop7ZAhVLRy8KHbhmCJwQ6wEIKTAA#v=onepage&q=siklamat%20denny%20indra%20praja&f=false>. Pada 20 November 2017.
- Setiawan, Egi Aldi., Ibrahim, Moh. Nuh., Wahab, Djukrana. (2016). *Analisis Zat Kandungan Pemanis Sakarin dan Siklamat Pada Minuman yang Diperdagangkan di Sekolah Dasar di Kelurahan Wua-Wua Kota Kendari*. Jurusan Sains dan Teknologi Pangan. Fakultas Teknologi Industri Pertanian. Universitas Halu Oleo. Vol. 1. No. 1. 45 - 50. <http://ojs.uho.ac.id/index.php/jstp/article/viewFile/1038/680>. Diakses pada 27 Agustus 2018.
- Sihombing, Marice., Sulistyowati, Tuminah. (2011). *Perubahan Nilai Hematologi, Biokimia Darah, Bobot Organ dan Bobot Badan Tikus Putih pada Umur Berbeda*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi. Kementerian

- Kesehatan Republik Indonesia. Volume 12. Nomor 1. 58-64. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/article/view/2365>. Diakses pada 21 Januari 2018.
- Soesilo, Novitasari. (2012). *Pengaruh Pemberian Jus Noni (Morinda citrifolia L.) Dosis Bertingkat terhadap Produksi Nitric Oxide (NO) Makrofag Peritoneum Pada Tikus Galur Wistar yang Diberi Paparan Asap Rokok*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Subowo. (2014). *Imunobiologi*. Edisi 3. Jakarta: Sagung Seto.
- Susanti, Erna., Retty, Ratnawati., Aulanni'am., Ahmad, Rudijanto. (2015). *Karakterisasi Kultur Makrofag Hasil Isolasi Mouse Peritoneum Makrofag (PMI)*. Universitas Brawijaya. Malang. El Hayah. Volume 5. Nomor 3. 103-109. <http://ejournal.uin-malang.ac.id/index.php/bio/article/view/3096/4962>. Diakses pada 21 November 2017.
- Utomo, Y., A. Hidayat., M. Dafip., F. A. Sasi. (2012). *Studi Histopatologi Hati Mencit (Mus musculus L.) yang Diinduksi Pemanis Buatan*. Jurusan Biologi FMIPA Unnes. Semarang. 35 (2). 122-129. https://journal.unnes.ac.id/artikel_nju/JM/2604. Diakses pada 15 Desember 2017.
- Wahyuni, dkk. 2014. *Modul Praktikum Hematologi*. Politeknik Kesehatan Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Surabaya.
- Wijayanti, Mahardika Agus. (1999). *Kemampuan Fagositosis Makrofag Peritoneum Mencit yang Diimunisasi Selama Infeksi Plasmodium berghei*. Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Vol. 31. No. 4. <http://i-lib.ugm.ac.id/jurnal/download.php?dataId=4290>. Diakses pada 5 Februari 2018.
- Winarno, F, G., Rahayu., Titi, Sulistyowati. (1994). *Bahan Tambahan Untuk Makanan dan Kontaminan*. Jakarta: Gramedia.
- Wolfensohn, Sarah., Maggie, Lloyd. (2013). *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. Edisi Keempat. Wiley-Blackwell. <https://books.google.co.id/books?id=PTU0m-bQAAsC&printsec=frontcover&dq=wolfenshon+dan+lloyd+2013&hl=id&sa=X&ved=0ahUKEwiwuMXRt57ZA hUE448KHf9wCmIQ6AEIKzAA#v=onepage&q=wolfenshon%20dan%20lloyd%202013&f=false>. Diakses pada 21 Januari 2018.