

## TOKSISITAS SUBAKUT TEPUNG GLUKOMANAN (*A. muelleri* Blume) TERHADAP SGOT DAN NATRIUM TIKUS WISTAR SECARA *IN VIVO*

### *Subacute Toxicity Testing of Glucomannan (A. muelleri Blume) Toward SGOT and Sodium of Wistar Rats by In Vivo*

Amanda Krysanti<sup>1\*</sup>, Simon Bambang Widjanarko<sup>1</sup>

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang  
Jl. Veteran, Malang 6514

\*Penulis Korespondensi, email: manda.krysanti@yahoo.com

#### ABSTRAK

Porang (*A.muelleri* Blume) merupakan jenis talas-talasan yang tumbuh liar di hutan Indonesia. Umbi porang spesies *muelleri* Blume dapat dijadikan tepung dan memiliki kadar glukomanan yang cukup tinggi (37.27%). Pengolahan umbi porang menjadi tepung tepat dijadikan sebagai bahan pengganti tepung *konjac*. Tepung porang memiliki kekurangan, yaitu adanya kalsium oksalat yang bersifat toksik. Dengan menguji toksisitas subakut tepung *A.muelleri* Blume secara in-vivo diharapkan dapat mengetahui kadar tepung yang aman dikonsumsi. Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Posttest dengan Kelompok Kontrol. 12 tikus wistar jantan dan betina dibagi dalam 4 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol, pemberian tepung glukomanan dosis 250; 1000; 4000 mg/kg BB tikus selama 28 hari. Karakteristik yang diamati adalah SGOT dan natrium. Hasil penelitian menunjukkan pemberian tepung glukomanan 250 dan 1000 mg/kg BB selama 28 hari belum memberikan efek toksik, pemberian dosis 4000 mg/kg BB selama 28 hari menunjukkan efek toksik yang ditandai dengan tingginya SGOT dan natrium.

Kata kunci: In Vivo, Kalsium Oksalat, Subakut, Toksisitas, Umbi Porang *A. muelleri* Blume

#### ABSTRACT

*Porang (A.muelleri Blume) is a tuber plant which grows in Indonesian forest. Muelleri Blume species can be processed into flour which contains relatively high amount of glucomannan(37.27%). Processing porang into flour is considered as appropriate to substitute the konjac flour. Porang flour has shortcomings in terms of nutrient content, which is the presence of calcium oxalate. By testing the toxicity of porang flour, it's expected to know the save level of porang flour consumption. The used method was True Experimental with Post-test Only Control Group. 12 male and female wistars were divided into 4 groups; distilled water treated, glucomannan flour treated at 250; 1000; 4000 mg/kg BW dose for 28 days. The observed characteristics were SGOT and sodium. In-vivo result showed 250;1000 mg/kg BW dose of glucomannan flour has not given toxic effect. 4000 mg/kg BW dose showed toxic effect which marked by the high level of SGOT and sodium.*

*Keywords: In Vivo, Calcium oxalate, Subacute, Toxicity, Porang tuber A. muelleri Blume*

#### PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara subtropis yang kaya akan keanekaragaman hayati, termasuk didalamnya adalah tanaman yang dapat digunakan untuk pengobatan. Kecenderungan masyarakat modern menggunakan obat alamiah untuk keperluan medikasi saat ini, mendorong semakin intensifnya penelitian-penelitian yang ditujukan untuk eksplorasi dan pemanfaatan tanaman-tanaman yang diyakini mempunyai khasiat pengobatan. Salah satu tanaman yang memiliki efek farmakologi adalah umbi porang.

Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) adalah golongan Araceae asli Indonesia yang banyak tumbuh secara liar di hutan-hutan pulau Jawa, sehingga di Jepang dikenal sebagai "Jawa Mukago Konyaku". Selain porang terdapat 130 spesies lain dari golongan *Amorphophallus* yang banyak tumbuh di pegunungan daerah subtropis Asia. Spesies lain yang banyak dibudidayakan dan dimanfaatkan di Jepang adalah *Amorphophallus rivieri* / *Amorphophallus konjac*.

Sentra pengembangan budidaya porang di Jawa Timur adalah Kesatuan Pemangkuan Hutan (KPH) Saradan, Desa Klangon, Kabupaten Madiun. Pada tahun 2005, produksi umbi porang di Desa Klangon dapat mencapai 5.535 ton. Data dari Dinas Pertanian Tanaman Pangan dan Hortikultura Kabupaten Madiun, produksi umbi porang di Kabupaten Madiun di tahun 2009 semakin meningkat, yaitu 7.314 ton pada tahun 2007 dan 8.803 ton [1].

Tepung porang berasal dari umbi porang berwarna kuning kemerahan, sangat gatal, dan memiliki kadar glukomanan 15 – 56%. Sumber penyebab rasa gatal pada umbi porang ada pada kalsium oksalatnya. Kalsium oksalat bagi tanaman berfungsi sebagai pelindung terhadap musuh alami tanaman [2]. Kalsium oksalat dapat mengakibatkan kerusakan ginjal dan kematian. Umbi porang dan produk turunannya seperti tepung porang kasar mengandung kalsium oksalat yang tergolong tinggi (2.1%) [3]. Hal inilah yang menyebabkan umbi porang atau tepung porang kasar tidak dapat dikonsumsi secara langsung karena beracun dan berbahaya bagi kesehatan.

Semua yang dikonsumsi manusia, baik yang berasal dari hewani ataupun nabati, mengandung aneka ragam zat yang bermanfaat dan sangat diperlukan untuk tubuh. Tetapi ada beberapa zat yang dapat menimbulkan keadaan yang tidak diinginkan, seperti gejala sakit hingga kematian [4]. Hal ini disebabkan adanya zat-zat yang bersifat racun dalam bahan pangan tersebut. Kalsium oksalat akan bersifat toksik bagi tubuh jika dikonsumsi dalam dosis tertentu. Untuk mengetahui efek merugikan dari kalsium oksalat pada tepung porang perlu dilakukan uji toksisitas. Salah satu uji toksisitas adalah uji toksisitas subakut untuk menentukan dosis aman dalam mengkonsumsi tepung porang. Penelitian mengenai toksisitas dan efek samping porang (*A.muelleri* Blume) belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keamanan dan efek toksisitas subakut tepung porang terhadap hati, ginjal, dan serum darah tikus putih galur wistar.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung porang murni dengan ukuran 120 mesh, larut air, memiliki kadar glukomanan yang tinggi, dan kadar kalsium oksalat yang rendah, warna coklat. Bahan yang digunakan untuk membuat tepung glukomanan antara lain akuades dan etanol 96% (diencerkan menjadi etanol 40%, etanol 60%, dan etanol 80%). Analisa kimia menggunakan bahan-bahan antara lain DNS (asam 3,5 dinitrosalisilat), NaOH 2M, garam Rossel, akuades, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, glukosa standar, asam format, CaCl<sub>2</sub>, indikator *methyl red*, NH<sub>4</sub>OH, HCl pekat. Sampel untuk *in vivo* adalah tikus putih jenis *Rattus norvegicus strain* wistar jantan dan betina dewasa usia 17 minggu dengan berat badan 200-220 gram, tepung glukomanan 120 mesh dan tepung porang 120 mesh. Bahan yang digunakan untuk pakan tikus adalah pakan jenis *Broiler Crumble* 1 diperoleh dari Gudang Ternak Sawahan, tepung terigu "Bogasari-Lencana Merah" diperoleh dari toko Rakit Pasar Besar Kota Malang.

### Alat

Alat yang digunakan dalam pembuatan tepung glukomanan adalah timbangan analitik "Denver Instrument", *beaker glass* "Pyrex" 500 ml, spatula kaca, *homogenizer* "Velp Scientifica", kertas saring, oven kering "WTC Binder". Alat yang digunakan untuk perawatan tikus antara lain kandang tikus, tempat makan tikus, tempat minum tikus, serbuk gergaji, sonde. Peralatan untuk membuat pakan tikus adalah timbangan digital "CAMRY", baskom.

Peralatan yang digunakan untuk pembedahan antara lain pinset, gunting, jarum pentul, alas pembedahan.

### Desain Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan kombinasi komposisi tepung glukomanan yang dibagi dalam empat kelompok perlakuan, yaitu perlakuan kontrol dimana hanya diberi pakan diet normal BR1 (*boiler crumble*), dosis I (250 mg/kg BB tepung glukomanan) + diet normal BR1, dosis II (1000 mg/kg BB tepung glukomanan) + diet normal BR1, dan dosis III (4000 mg/kg BB tepung glukomanan) + diet normal BR1. Percobaan dilaksanakan dengan 3 kali ulangan dan jenis kelamin tikus sebagai faktor perlakuan sehingga didapatkan 24 kombinasi perlakuan.

### Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian diawali dengan sortasi bahan baku (tepung porang) dan yang digunakan adalah tepung porang kasar 120 mesh. Selanjutnya dilakukan proses pencucian tepung dengan metode maserasi [5] untuk memperoleh tepung porang murni/tepung glukomanan. Tahapan berikutnya adalah *in vivo*, yaitu pemberian tepung glukomanan pada dosis yang telah ditetapkan dan pemberiannya secara oral selama 28 hari. Tahap berikutnya proses aklimasi/pembedahan untuk memperoleh serum darah tikus yang akan dianalisa. Tahap terakhir adalah proses analisa serum darah menggunakan alat *Random Access Auto Analyser Biosystem A15* untuk mendapatkan nilai SGOT dan natrium tikus.

### Metode Penelitian

#### Maserasi [5]

Pada proses maserasi tepung, tepung porang yang telah disortasi ditimbang dan dimasukkan ke dalam beaker gelas yang kemudian ditambahkan etanol 40% kedalamnya. Kemudian dilakukan pengadukan dengan homogenizer dengan waktu dan kecepatan tertentu. Setelah itu larutan disaring, diambil ampasnya, dan dibuang filtratnya. Kemudian ampas ditambahkan etanol 60% dan kembali dilakukan pengadukan dan penyaringan hingga menggunakan etanol 80%. Ampas hasil maserasi kemudian dikeringkan dalam oven suhu tinggi selama  $\pm$  24 jam dan didapatkan tepung porang hasil maserasi (tepung glukomanan).

#### In Vivo [6]

Pada proses *in vivo*, tikus putih galur wistar berumur 17 minggu diadaptasi selama 7 hari dengan diet normal BR (*Boiler Crumble*) 1. Kemudian, tikus dibagi dalam 4 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol (tanpa pemberian tepung glukomanan), kelompok pemberian tepung glukomanan dosis 250, 1000, dan 4000 mg/kg BB tikus setiap hari selama 28 hari. Pada hari ke 29, seluruh kelompok perlakuan tikus dibedah dan dilakukan pengambilan darah yang kemudian dianalisa kadar SGOT dan natriumnya.

#### Prosedur Analisis Serum Darah [7]

Pemeriksaan serum darah dilakukan dengan alat *Random Access Auto Analyser Biosystem A15*. Sampel pertama kali dikalibrasi dengan NaCl 0,9% dalam C.f.a.s (*Calibrator for automated system*). Kalibrator dilarutkan dengan aquabidest dan dicampur hingga homogen, dibagi dalam cup @200  $\mu$ l kemudian disimpan di *freezer* 2-8°C. Selanjutnya ditekan panel "*Calibration*" dan "*Status*", pilih parameter yang dikalibrasi, tekan kalibrasi kemudian "*Start*". Setelah sampel dikalibrasi, dilakukan "*Quality Control*" dengan Bio-Rad sebagai berikut: 300  $\mu$ l Bio-Rad dipipet kedalam cup serum dan diletakkan pada rak kontrol yang telah ditentukan  $\rightarrow$  tekan panel "*Quality Control*"  $\rightarrow$  tekan panel "*Install*"  $\rightarrow$  pilih jenis kontrol Bio-Rad  $\rightarrow$  pilih parameter yang akan dikontrol (SGOT dan natrium), aktifkan  $\rightarrow$  tekan panel "*Active Test*"  $\rightarrow$  tekan "*Start*" 2 kali. Selanjutnya untuk pemeriksaan kadar serum darah sampel, sampel yang telah diberi kode kemudian diletakkan pada raknya masing-masing dan dilakukan langkah-langkah yang sama seperti langkah pada pengujian

serum kontrol. Kemudian secara otomatis alat akan menghitung konsentrasi parameter (SGOT dan natrium) yang diuji.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. SGOT (Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase)

Pemeriksaan uji fungsi hati merupakan salah satu pemeriksaan kimia yang seringkali dianggap sangat penting untuk menilai kesehatan. Hal ini dikarenakan peran hati sebagai organ tubuh yang penting dan merupakan organ pusat metabolisme. Hati menerima darah dari sirkulasi sistemik melalui arteri *hepatica* dan menampung aliran darah dari sistem porta yang mengandung zat makanan yang diabsorpsi di usus.

SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*) atau *aspartate aminotransferase* (AST) merupakan sebuah enzim yang biasanya terletak didalam sel-sel hati. SGOT dilepaskan ke dalam darah ketika hati atau jantung rusak. Tingkat SGOT dalam darah signifikan dengan tingginya kerusakan hati atau dengan kerusakan jantung (misalnya serangan jantung). Beberapa obat juga dapat meningkatkan kadar SGOT. Enzim ini dalam jumlah yang kecil dijumpai pada otot jantung, ginjal dan otot rangka. Nilai rujukan SGOT/AST normal untuk tikus putih adalah 45.7 – 80.8 U/liter [8].

Hasil uji statistik ragam (ANOVA) menunjukkan faktor pemberian dosis tepung glukomanan memberikan pengaruh yang nyata ( $\alpha=0.05$ ) terhadap kadar SGOT tikus percobaan. Berdasarkan hasil tersebut perlu dilakukan uji lanjut DMRT dengan taraf 5% untuk melihat kelompok perlakuan mana yang berbeda. Rerata hasil uji DMRT ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Total SGOT dari Serum Darah Tikus Wistar Jantan dan Betina yang Diberi Tepung Glukomanan (Dosis 250 – 4000mg/kg BB) Setelah 28 Hari

Dosis Tepung Glukomanan (mg/kg BB)	SGOT (U/L)	
	Jantan	Betina
Kontrol negatif	147.33 a	145.00 a
250	180.00 ab	157.50 a
1000	180.33 ab	180.50 ab
4000	284.00 b	231.00 b
Nilai DMRT 5%	60.96 – 69.18	

Keterangan: Data dengan notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $\alpha=0.05$ )

Tabel 1 menunjukkan SGOT tikus jantan kontrol negatif memiliki rerata sebesar 147.33 U/liter tidak berbeda nyata dengan perlakuan 250 mg/kg BB (180.00 U/liter), perlakuan 1000 mg/kg BB (180.33 U/liter), dan berbeda nyata dengan perlakuan 4000 mg/kg BB (284.00 U/liter). Kadar SGOT pada tikus betina kontrol negatif memiliki rerata sebesar 145.00 U/liter tidak berbeda nyata dengan perlakuan dosis 250 mg/kg BB (157.50 U/liter), perlakuan dosis 1000 mg/kg BB (180.50 U/liter), dan berbeda nyata dengan perlakuan dosis 4000 mg/kg BB (231.00 U/liter).

Hasil pengujian SGOT pada Tabel 1 menunjukkan perlakuan dosis 4000 mg/kg BB mempunyai kadar tertinggi diantara perlakuan yang lain. Hal ini terkait dengan kerusakan hati yang menyebabkan ketidakseimbangan aktivitas enzim di dalam hati. Kerusakan sel hati akibat zat toksikan dapat mengakibatkan permeabilitas membran rusak sehingga enzim SGOT dapat keluar sel dengan bebas, masuk ke ruang ekstrasel dan pembuluh darah melebihi keadaan normal [9]. Oksalat pada tepung glukomanan yang berbentuk jarum akan larut dalam darah dan dapat menggores dan merusak sel hati serta bersifat korosif dalam tubuh [2].

Tabel 1 menunjukkan semua perlakuan termasuk kontrol memiliki nilai rerata SGOT diatas rata-rata (145.00 - 231.00 U/liter). Nilai SGOT yang berada sedikit di atas normal tak selalu menunjukkan keadaan hati yang sakit. Diduga tidak semua peningkatan SGOT akibat dari gangguan pada hati. Kadar SGOT bergantung dari cara pengambilan darah, jumlah

serum darah yang diperoleh, dan lama penyimpanan serum darah sebelum diperiksa, dan umur hewan coba. Hal ini diperkuat pada penelitian sebelumnya tentang perubahan nilai hematologi dan biokimia tikus putih pada umur berbeda, dimana kadar SGOT tikus putih pada umur 3 bulan (61.10 U/liter) lebih besar daripada kadar SGOT pada tikus putih berumur 1 dan 2 bulan (50.21 U/liter dan 47.31 U/liter) [10].

## 2. Natrium

Hampir seluruh natrium tubuh berada dalam darah dan dalam cairan di sekeliling sel. Natrium tubuh berasal dari makanan dan minuman dan dibuang melalui air kemih dan keringat. Ginjal yang normal dapat mengatur natrium yang dibuang dalam air kemih, sehingga jumlah total natrium dalam tubuh sedikit bervariasi dari hari ke hari. Suatu gangguan keseimbangan antara asupan dan pengeluaran natrium akan mempengaruhi jumlah total natrium di dalam tubuh. Kadar natrium dalam darah tikus pada keadaan normal adalah sebesar 138.00 – 145.00 mEq/L [11].

Hasil uji statistik ragam (ANOVA) menunjukkan hasil bahwa faktor pemberian dosis tepung glukomanan memberikan pengaruh yang nyata ( $\alpha=0.05$ ) terhadap kadar natrium tikus percobaan. Berdasarkan hasil tersebut perlu dilakukan uji lanjut DMRT dengan taraf 5% untuk melihat kelompok perlakuan mana yang berbeda. Rerata hasil uji DMRT ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2 menginformasikan bahwa natrium pada tikus jantan kontrol negatif memiliki rerata sebesar 145.60 mEq/L. Untuk perlakuan dosis 250; 1000; dan 4000mg/kg BB secara berurutan sebesar 148.17 mEq/L; 145.57 mEq/L; dan 146.57 mEq/L. Sedangkan natrium pada tikus betina kontrol negatif adalah 144.15 mEq/L. Untuk perlakuan dosis 250; 1000; dan 4000mg/kg BB secara berurutan sebesar 145.15 mEq/L; 146.15 mEq/L; dan 147.03 mEq/L.

Tabel 2. Kadar Natrium (mEq/L) Tikus Wistar Jantan dan Betina yang diberi Tepung Glukomanan (Dosis 250 – 4000mg/kg BB) Setelah 28 Hari

Dosis Tepung Glukomanan (mg/kg BB)	Natrium (mEq/L)	
	Jantan	Betina
Kontrol negatif	145.60 ab	144.15 a
250	148.17 b	145.15 ab
1000	145.57 ab	146.15 b
4000	146.30 b	147.03 b
Nilai DMRT 5%	1.95 – 2.21	

Keterangan: Data dengan notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $\alpha=0.05$ )

Kadar natrium tikus jantan dan betina (Tabel 2) yang berada di atas nilai normalnya diduga akibat adanya paparan zat toksik berupa kalsium oksalat. Adanya paparan zat toksik menyebabkan hilangnya pengaturan volume pada bagian-bagian sel [12]. Agar kestabilan terjaga, sel harus mengeluarkan energi metabolik untuk memompa ion natrium keluar membran dan ion kalium masuk membran. Jika membran sel rusak oleh zat toksik (secara mikroskopis kalsium oksalat pada tepung porang dan tepung glukomanan berbentuk jarum yang dapat melukai membran sel) maka sel tidak mampu memompa ion natrium dengan baik. Hal inilah yang menyebabkan kenaikan konsentrasi natrium karena penimbunan cairan interseluler dan influks air ke pada bagian ekstrasel. Meningkatnya volume cairan ekstraseluler berbanding lurus dengan meningkatnya volume darah sehingga tekanan darah juga menjadi tinggi [13].

Beberapa faktor lainnya yang dapat meningkatkan kadar natrium antara lain keadaan fisik dan usia hewan coba. Diduga keadaan hewan coba yang stress dan mengalami diare pada pemberian tepung glukomanan 4000 mg/kg BB dapat mempengaruhi total natrium dalam darah. Salah satu penyebab utama hipernatremia adalah kehilangan cairan yang berlebihan (diare, muntah) [14]. Selain itu, hipernatremia lebih sering terjadi pada hewan coba dengan usia lanjut (4-5 bulan ke atas, karena 1 bulan usia tikus setara dengan 10

tahun usia manusia). Pada usia lanjut, rasa haus lebih lambat terbentuk dan tidak begitu kuat dibandingkan usia muda. Kemampuan ginjal untuk memekatkan air kemih mulai berkurang dan akibatnya ginjal mengeluarkan terlalu banyak air.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian toksisitas subakut tepung glukomanan selama 28 hari, didapatkan bahwa pada pemberian dosis 250 mg/kg BB tikus (setara dengan 2.43 g/60kg BB manusia) tidak memberikan efek toksik, dosis 1000 mg/kg BB tikus (setara dengan 9.73 g/60kg BB manusia) menimbulkan gejala klinis pada sebagian kecil hewan coba, dan dosis 4000 mg/kg BB tikus (setara dengan 38.92 g/60kg BB manusia) menyebabkan kerusakan pada serum darah tikus wistar.

Tepung glukomanan dengan kandungan glukomanan sebesar 40.36% dan kalsium oksalat sebesar 1.48% dapat diaplikasikan dalam pembuatan konyaku (tahu/jeli jepang) sebesar 2 g yang dilarutkan dalam 65 cc air, atau dalam pembuatan minuman berserat sebesar 2.4 g yang dicampur dengan bahan tambahan lain hingga 6.3 g.

## DAFTAR PUSTAKA

- 1) Kominfo Jatim. 2013. Produksi Porang di KPH Saradan. (<http://kominfo.jatimprov.go.id/watch/34135>). Tanggal akses 28 Mei 2013
- 2) Adiwisastro, A. 1985. Keracunan: Sumber, bahaya, serta penanggulangannya. Angkasa. Bandung
- 3) Widjanarko, S.B., Sutrisno, A., Faridah, A. 2011. Efek Hidrogen Peroksida Terhadap Sifat Fisio-Kimia Tepung Porang (*Amorphophallus oncophyllus*) dengan Metode Maserasi dan Ultrasonik. Jurnal Teknologi Pertanian. Vol 12, no.13: 143 – 152
- 4) Donatus, A.I. 2001. Toksikologi Dasar. Fakultas Biofarmasi. Universitas Gajahmada. Yogyakarta
- 5) Widjanarko, S.B. 2008. Bahan Pembentuk Gel. (<http://simonbwidjanarko.wordpress.com/2008/06/23/bahan-pembentuk-gel-by-simon-bw/>). Tanggal akses 4 Agustus 2013
- 6) Pradana, W. 2011. Efek Ekstrak Air Daun Cincau Hitam (*Mesona palustris* BL) sebagai Hepatoprotektif pada Tikus Wistar yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. FTP. Universitas Brawijaya. Malang
- 7) Doloksaribu, B. 2008. Pengaruh Proteksi Vitamin C Terhadap Kadar Ureum, Kreatinin, dan Gambaran Histopatologis Ginjal Mencit yang Dipapar Plumbum. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Universitas Sumatera Utara. Medan
- 8) Wibowo AW, L Maslachch & Bijanti. 2008. Pengaruh Pemberian Perasan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dengan Diet Tinggi Lemak. *Jurnal Veterineria Medika* Universitas Airlangga Vol. 1:1-5
- 9) Fathoni, F. 2008. Studi Kasus SGPT, SGOT, dan Total Protein pada Serum Darah Anjing Kampung (*Canis familiaris*) Usia 3 Bulan dan 6 Bulan. Skripsi. IPB. Bogor
- 10) Sihombing, M. dan Tuminah, S. 2011. Perubahan Nilai Hematologi, Biokimia Darah, Bobot Organ, dan Bobot Badan Tikus Putih pada Umur yang Berbeda. *Jurnal Veteriner*. Vol 12, no 1: 58 – 64
- 11) Hilltop Lab Animals. 2009. Public Research. (<http://hilltoplabs.com/public/research.html>) Tanggal akses 28 Juni 2013
- 12) Chevile, N.F. 1999. Introduction to Veterinary Pathology. Edisi ke-2. Iowa: Iowa State University Press
- 13) Astawan, M., Wresdiyati, T., dan Hatanta, A.B. 2005. Pemanfaatan Rumput Laut sebagai Sumber Serat Pangan untuk Menurunkan Kolesterol Darah. *Jurnal Hayati* 12 (1) : 23-27
- 14) Albaharun, A. 2012. Hiperkalemia, Hipokalemia, Hipernatremia, Hiponatremia. (<http://aishalbaharun.blogspot.com/2012/02/hiperkalemia-hipokalemia.html>). Tanggal akses 7 Juli 2013