



RESEARCH ARTICLE

UJI TOKSISITAS AKUT DAN ALERGI EKSTRAK BIJI KAKAO (*Theobroma cacao L.*) TERHADAP MENCIT (*Mus Muculus L.*)

Setiawan*, Putu Sulistiawati Dewi**, Ni Nyoman Laksmi Adhiarini

Bagian Oral Surgery, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Mahasaraswati Denpasar

E-mail : laksmiadhiarini96@gmail.com

ABSTRAK

Biji kakao biasa digunakan oleh masyarakat sebagai obat herbal dalam proses mempercepat penyembuhan luka, sehingga perlu diuji dalam keamanan penggunaannya. Penelitian berjudul Uji Toksisitas Akut dan Alergi Ekstrak Biji Kakao terhadap Mencit (*Mus Muculus L.*) bertujuan untuk mengetahui Lethal Dose 50, klasifikasi ketoksikan serta melakukan pengamatan gejala alergi secara dermal ekstrak biji kakao terhadap mencit. Pada uji toksisitas akut menggunakan metode perhitungan Aritmatik dari Karber dengan menggunakan mencit sebagai hewan coba sebanyak 25 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan rangkaian uji utama kelompok I sebagai kelompok kontrol dengan aquades, kelompok 2-5 diberi ekstrak uji dengan dosis 4500, 5500, 6500 dan 7500mg/kgBB dengan sekali pemberian secara oral dan diamati jumlah kematian pada tiap hewan uji selama 7 hari. Pada pengujian alergi menggunakan metode Wilcoxon. Dari hasil penelitian uji toksisitas akut didapatkan nilai LD₅₀ ekstrak biji kakao yaitu sebesar 3000 mg/kgBB termasuk dalam kategori supertoksik (<5 mg/kgBB) dan pada uji alergi tidak menyebabkan alergi (tidak ada ruam dan merah-merah). Untuk toksisitas akut, bobot mencit dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA dan LSD serta pada uji alergi menggunakan Wilcoxon. Dari hasil analisis menunjukkan terdapat perbedaan secara bermakna pada taraf uji 0,05 ($p < 0,05$). pada uji alergi memperoleh hasil uji statistik yang menyatakan bahwa tidak ada reaksi alergi pada mencit selama perlakuan dengan nilai $p > 0,05$.

Kata kunci : getah biji kakao, Toksisitas akut, Uji alergi, LD₅₀

PENDAHULUAN

Pengobatan tradisional masih diyakini sebagian besar masyarakat di dunia sebagai penunjang kesehatannya. Masyarakat mulai menyadari pentingnya penggunaan bahan alami dalam pengobatan termasuk di Indonesia dimana bahan alami tersebut sangat



berkembang pesat untuk diproses menjadi salah satu alternatif pengobatan tradisional. Saat ini berbagai obat-obatan alternatif dipilih sebagai pengobatan yang lebih aman daripada pengobatan dengan obat berbahan kimia (Purwaningsih dkk 2015).

. Pengobatan tradisional telah ada sejak zaman dahulu dan dilestarikan penggunaannya secara empiris. Saat ini, legilasi penggunaan pengobatan tradisional pun masih dalam sistem toleran. PT. Eisai pada 1986 melakukan inventarisasi dimana hasilnya menyebutkan sekitar tujuh ribu spesies tanaman di Indonesia digunakan masyarakat sebagai obat tradisional atau herbal. Penggunaan obat tradisional tidak dilarang oleh undang – undang dalam sistem pelayanan kesehatan kedokteran modern (Dewoto 2007).

Berbagai tanaman banyak dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan suatu penyakit maupun pemeliharaan kesehatan. Salah satunya adalah biji kakao (*Theobroma cacao L.*) yang diyakini dapat mempercepat penyembuhan luka. Tanaman ini diyakini memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan (Misnawi 2002). Indonesia memiliki tanaman kakao yang cukup banyak, terbukti bahwa Indonesia merupakan produsen kakao terbesar di dunia urutan ke tiga (Rukmana dkk 2016). Tanaman kakao dapat tumbuh di sebagian besar wilayah Indonesia terutama di Pulau Sulawesi, Pulau Jawa, dan Pulau Sumatera (Fowler 2009).

Biji kakao (*Theobroma cacao L.*) mempunyai peranan penting bagi tubuh manusia, senyawa kimia pada biji kakao antara lain flavonoid, katekin, epikatekin (Etherthon 2002) theobromine, kafein, dan polifenol (Kayaputri 2014). Senyawa flavonoid berfungsi sebagai antiinflamasi serta antioksidan. Diketahui juga bahwa saponin, tannin dan katekin memiliki fungsi sebagai antioksidan (Etherthon 2015), sedangkan theobromine memiliki fungsi sebagai antimikroba (Kayaputri 2014). Mekanisme biji kakao yang berfungsi sebagai antioksidan adalah dengan memotong reaksi berantai radikal bebas (Lingga 2012). Selain itu, senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antiinflamasi juga berpengaruh terhadap proliferasi sel fibroblas. Flavonoid mampu mengurangi proses inflamasi melalui hambatan terhadap pembentukan prostaglandin yang dibentuk oleh asam arachidonate dan mediator inflamasi lain seperti histamin dan serotonin (Ardian dkk 2015).

Uji toksisitas akut diperlukan dalam mengukur derajat dari efek toksik yang ditimbulkan oleh suatu senyawa dalam waktu yang singkat. Pentingnya uji toksisitas akut sangat perlu di perhatikan. Sehingga, masyarakat dapat mencegah resiko yang timbul akibat paparan senyawa tertentu yang terkandung dalam obat (Hendriani 2007). Uji alergi juga diperlukan untuk membuktikan apakah ada kemungkinan terjadinya reaksi hipersensitivitas setelah penggunaan obat yang berbahan dasar ekstrak biji kakao (Hikmah dkk 2010).

Banyak hewan uji coba yang sering dipakai salah satunya yaitu mencit (*Mus musculus L.*). Mencit (*Mus musculus L.*) hampir sebanyak 40% – 80% yang



menggunakannya dalam melakukan suatu penelitian karena siklus hidupnya yang relative pendek, perkelahiran mencit jumlahnya banyak, variasi sifatnya tinggi, mudah ditangani dan sifat anatomis dan fisiologinya terkarakterisasi dengan baik. Mencit (*Mus musculus L.*) memiliki umur kurang lebih 1-3 tahun dengan terdapat perbedaan usia berdasarkan kepekaan terhadap lingkungan dan penyakit (Tolistiawaty dkk 2014).

TINJAUAN PUSTAKA

1. Toksisitas

Dalam ilmu toksikologi, toksisitas adalah suatu keadaan yang menandakan adanya efek toksik atau racun yang terdapat pada bahan obat sebagai sediaan dosis tunggal atau campuran. Apabila senyawa toksik sudah cukup menumpuk pada organ target, proses kerusakan akan terjadi baik pada organ target maupun organ lainnya. Senyawa toksik akan mengakibatkan kerusakan yang lebih parah ketika senyawa tersebut memiliki jumlah atau konsentrasi yang tinggi pada tubuh. Konsentrasi senyawa toksik dalam tubuh merupakan jumlah racun yang dipaparkan, kemudian berkaitan dengan kecepatan daya serapnya, jumlah yang diserap, dan berhubungan dengan distribusi, metabolisme maupun ekskresi senyawa toksik tersebut (Mansur 2018).

2. Alergi

Alergi adalah suatu reaksi imun tubuh yang bersifat spesifik terhadap paparan suatu bahan yang dapat disebut sebagai alergen yang memiliki pengaruh berbeda pada tiap orang (Soedarto 2012). Istilah alergi digunakan oleh Clemens pada tahun 1906 untuk pertama kalinya yang diartikan sebagai "reaksi pejamu yang berubah" apabila terpapar oleh bahan yang sama untuk kedua kalinya atau lebih (Bratawidjaja 2006).

3. Kakao

Biji kakao mengandung flavonoid yang memiliki efek antioksidan yang dapat mempercepat fase inflamasi dengan cara menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi oksidasi dengan meningkatkan aktifitas enzim *Superoxide dismutase (SOD)* dan *glutathion transferase*. Selain itu, flavonoid memiliki aktivitas antiinflamasi yang bekerja menghambat fase penting dalam biosintesis prostaglandin yaitu pada lintasan siklooksigenase dan juga memiliki aktivitas antibakteri melalui hambatan fungsi *gyrase* bakteri sehingga kemampuan replikasi dan translasi bakteri dihambat (Hidayat 2013).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian, memberikan data kematian mencit yang diakibatkan oleh dosis bahan uji ekstrak biji kakao dengan dosis bertingkat serta hasil pengujian alergi secara topikal pada punggung mencit. Mencit yang digunakan diaklimatisasi terlebih dahulu



selama 1 minggu dengan tujuan agar mencit tersebut dapat beradaptasi pada suasana laboratorium dan untuk menghilangkan stress akibat transportasi. Selama proses aklimatisasi dan pengamatan, mencit ditimbang setiap hari untuk mengetahui perubahan berat badan yang terjadi. Mencit yang digunakan pada penelitian ini merupakan mencit dewasa yang memiliki berat badan antara 20-30gram dengan usia 2-3 bulan.

Hasil Uji skrining fitokimia digunakan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak biji kakao pada (Tabel 5.1) memperlihatkan adanya kandungan senyawa aktif antara flavonoid dan kuinon. Namun ada perbedaan dengan penelitian yang dilakukan Indira Lanti Kayaputri, dkk (2014) dalam hal ini selain ditemukan senyawa yang sama di atas pada penelitian ini juga ditemukan senyawa flavonoid, tanin, alkaloid dan saponin. Perbedaan hasil ini dicurigai terjadi akibat faktor geografis tanaman kakao itu tumbuh, jenis kakao, perawatan tanaman kakao serta jenis uji fitokimia yang dilaksanakan.

Pada uji toksisitas akut diperlukan uji pendahuluan terlebih dahulu untuk memperoleh dosis yang tepat pada saat pengujian toksisitas utama, sehingga diperoleh dosis yang dapat membunuh separuh dari hewan uji. Pada uji pendahuluan mencit dikelompokkan menjadi 6 kelompok yang masing masing kelompok terdiri dari 1 mencit. Dosis yang digunakan yaitu 400, 800, 1600, 3200, 6400, 12800 mg/kg BB, perhitungan tersebut berdasarkan pada OECD 420 *fix dose procedure*.

Dari hasil yang diperoleh pada uji pendahuluan, yaitu terdapat kematian pada dosis V dan VI. Pada dosis I terdapat 0% kematian, dosis II 0% kematian, dosis III 0% kematian, dosis IV 0% kematian, dosis V 100% kematian, dan dosis VI 100% kematian. Dari hasil tersebut, dosis yang digunakan pada uji toksisitas utama akan dimulai dengan dosis yang lebih rendah karena persentase kematian pada uji pendahuluan melebihi dari perkiraan. Dari hasil uji pendahuluan yang dimulai dari dosis 400 mg/kg BB sampai dengan 12800 mg/kg BB diatas, maka diambil keputusan untuk penggunaan dosis pada uji utama terendah yaitu sebesar 4500 mg/kg BB dan untuk menentukan dosis selanjutnya yaitu dengan menggunakan selisih 1000 sampai dengan 7500 mg/kg BB. Penggunaan dosis uji utama 4500 mg/kg BB dan 5500 mg/kg BB yang mana lebih rendah dari 6400 mg/kg BB untuk menguji kembali apakah terdapat dosis yang aman diantara 3200 mg/kg BB dan 6500 mg/kg BB serta melihat apakah terjadi kerusakan pada hepar mencit yang diberi dosis berulang. Dosis 6500 mg/kg BB dan 7500 mg/kg BB digunakan untuk membuktikan kembali apakah dosis tersebut menyebabkan 100% kematian pada mencit serta melihat kondisi kerusakan hepar yang terjadi setelah diberi sediaan uji dengan dosis tinggi secara berulang.

Pengamatan dilakukan selama 7 hari untuk mengetahui hewan uji yang mati dan melihat gejala toksik yang terjadi. Dalam waktu 24 jam telah terjadi kematian sebanyak 7 ekor yaitu pada dosis II sebanyak 1 mencit, dosis III sebanyak 1 mencit dan pada dosis 4 sebanyak 5 mencit. Pada hari kedua jumlah kematian mencit terjadi pada perlakuan



dosis I sebanyak 3 ekor, dosis II sebanyak 2 ekor mencit dan dosis III sebanyak 4 mencit, kematian selanjutnya terjadi pada hari ke-3 pada perlakuan dosis I sebanyak 1 ekor dan dosis II sebanyak 2 ekor. Kematian terakhir terjadi pada hari ke-4 dengan perlakuan perlakuan dosis I sebanyak 1 ekor. Gejala toksik yang umum terjadi yaitu tremor, kejang-kejang, lemas serta penurunan aktifitas. Sedangkan untuk mencit lainnya tetap dilakukan pengamatan hingga 7 hari.

Kematian pada mencit disebabkan oleh beberapa faktor yang menjadi landasan peneliti dapat menyimpulkan penyebab dari kematian mencit yang diberikan ekstrak biji kakao yang di sonde secara oral dengan rangkaian dosis pada tiap kelompoknya. Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kandungan senyawa aktif seperti flavonoid dan kuinon yang sudah dilakukan banyak penelitian akan manfaat baiknya bagi suatu jaringan atau organ hidup. Seperti flavonoid yang memiliki kandungan yang serupa dengan antioksidan serta dapat melindungi struktur sel, antiinflamasi dan sebagai antibiotik. Akan tetapi, apabila diberikan dengan dosis besar dengan sekali pemberian di waktu yang sama pada mencit, akan menyebabkan gangguan pada tanda tanda yang vital, misalnya suhu tubuh, denyut nadi, sistem pernafasan, tekanan darah hingga kematian.

Menurut Marlinda dkk (2012), senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman obat hampir selalu toksik apabila diberikan dalam dosis tinggi. Semua keracunan terjadi akibat reaksi antara zat beracun dengan reseptor dalam tubuh. Pemberian oral ekstrak biji kakao menyebabkan zat aktif yang terdapat dalam ekstrak biji kakao terabsorpsi dalam saluran pencernaan kemudian mengalami proses distribusi dan metabolisme. Produk metabolisme yang bersifat toksik bekerja sebagai inhibitor enzim untuk tahap metabolisme selanjutnya. Reaksi antara zat aktif dengan reseptor dalam organ efektor menyebabkan timbulnya gejala keracunan (Katzung 2002).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat ditarik kesimpulan bahwa :

1. Pemberian ekstrak biji kakao pada dosis 4500 mg/kgBB, 5500 mg/kgBB, 6500 mg/kgBB, dan 7500 mg/kgBB memberikan efek toksik pada mencit yang menyebabkan kematian.
2. Ekstrak biji kakao tidak menyebabkan alergi (tidak ada ruam dan merah – merah).

DAFTAR PUSTAKA

Anggraini, dkk., 2019, Intisari Sains Medis, Volume 10, Number 3: 772-776

Ardian, Payne, 2015, "Analisa Ekstraktif Tumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat", Pusat Penelitian Universitas Negeri Andalas.



- Arrington, L.R., 2001, "Introductory Laboratory Animal Science, the Breeding, Care and Management of Experimental Animal", Denville: The Interstate Printers and Publishers, Inc.
- B POM RI, 2014, "Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo. Jakarta: Badan Pengawasan Obat dan Makanan RI", Halaman 3-5.
- Baratawidjaja, KG., 2006, "Reaksi Hipersensitivitas. Dalam : Baratawidjaja, KG., dan Engganis, I., 2006, *Imunologi Dasar*, Ed 6", Jakarta : Balai Penerbit FKUI, hal. 157-161.
- Bellik Y, Boukraa L, Alzahrani H.A., Bakhotmah B.A., Abdellah F., Hammoudi S.M, Iguer-Ouada M., 2013. "Review: molecular mechanism underlying antiinflammatory and anti-allergic activities of phytochemicals: an update. *Molecules*", 18: 322-353.
- Candra Y., Arini S., Rengganis I., 2011, "Gambaran Sensitivitas Terhadap Alergen Makanan, *Makara Kesehatan*", Vol 15, pp. 44-49.
- DEPKES RI, 2000, "Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat", Jakarta Amin
- Dewoto, H.R., 2007, Pengembangan Obat Tradisional Indonesia menjadi Fitofarmaka, *Majalah kedokteran indonesia*, 57(7): 205-211.
- Dirjen POM, 2000, "Sediaan Galenik. Ed. II", Jakarta: Departemen Kesehatan RI Bhakti Husada
- Donatus I.A., 2005, "Toksikologi Dasar, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi", Fakultas Farmasi, UGM, Yogyakarta
- Dianti, P. P. P., 2020, "Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Pada Penyembuhan Luka Insisi Gingiva Marmut Janran (*Cavia porcellus*)". *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Mahasaraswati Denpasar. Denpasar
- Ehlayel M, 2013, "Early childhood's Antibiotic Use and Risk of Allergic Disease", *The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents*, Vol 3, pp. 3-4.
- Etherton, P. M. K, C. L., Keen., 2002, "Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health", *Lipidology*. 2(13): 41-49.
- Fitriani, L., Tamrin., Sadimantara M. S., 2020, "Kajian pengembangan produk cookies berbasis tepung ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) fermentasi dengan substitusi bubuk kakao (*Theobroma cacao*) untuk menghasilkan produk cookies", *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan* 5(2): 2772-2785
- Fowler M.S., 2009, "Cocoa Beans: From Tree to Factory. In *Industrial Chocolate Manufacture and Use*, ed. S.T. Beckett. 4th Editio", Oxford, UK: Blackwell Science.
- Harsono A., Endaryanto A., 2011, "Alergi Obat. Diakses Juli 2022
- Hidayat T.S.N., 2013, "Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera Pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat Dua", *Skripsi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Hodgson E, Levi P E., 2000, "A Textbook of Modern Toxicology", New York: McGraw-Hill Companies, Inc. 207-10.



- Huda N., Sindi, C., Amelia K., Z., & Sinaga, H., 2022, Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Sebagai Antioksidan", Jurnal Biogenerasi, 7(1), 163 - 170.
- Hafizha, Suardita K, Pribadi N., 2018, "Daya Antibakteri Ekstrak Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca var. sapientum*) terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*", *Conservative Dentistry Journal* .Vol.8 No.2: 85-90.Juli- Desember
- Hendriani R. M.Si, 2007, Uji Toksisitas Subkronis Kombinasi Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) Dan Rimpang Jahe Gajah (*Zingiber officinale* Rosc.) Pada Tikus Wistar", Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.
- Hikmah N., Dewanti I., 2010, "Seputar Reaksi Hipersensitivitas (Alergi). Stomatognatic", J.K.G. Unej, Vol 7 No.2: 108-12
- Ide, P., 2008., *Healt Secret Of Kefir*. Jakarta: PT Elex Media Komptindo.
- Katzung, B.G., and Trevor, A.J., 2002, Drug Interactions in Master, S., B., Pharmacology, Sixth Edition, 531, Lange Medical Book/McGraw-Hill, New York.
- Kayaputri, 2014, "Kajian Fitokimia Ekstrak Biji Kulit Kakao (*Theobroma cacao L.*)", *Chimica et Natura Acta*. 2(1): 83-90.
- Kurniawati A., Zainul C., Melati H.P., 2019, "Efektivitas ekstrak biji kakao (*Theobroma Cacao L.*) terhadap penyembuhan luka pencabutan gigi pada sel makrofag", *Denta Jurnal Kedokteran Gigi* Vol.13 No.2
- Lingga dan Lanny, 2012, "*Healthy Secret of Pepper (Cabai)*", Jakarta; Elex Media Komputindo.
- Lu, F.C., 2006, "Toksikologi Dasar (Asas Organ Sasaran dan Penilaian Resiko), Edisi II, Penerjemah: E.Nugroho, Z.S Bustaminan z., Parmansjah", Universitas Indonesia, Jakarta.
- Kursia, S., Julianri, S.L., Burhanuddin, T., 2016, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis*", *Jurnal Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar*. 3(2): 72.
- Mansur, 2008, "Toksikologi dan Distribusi Agent Toksik. Edisi ke-2", Jakarta: UI Press.
- Marlinda M., Sangi M.S., Wuntu A.D., 2012, "Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji toksisitas ekstrak etanol biji buah alpukat (*Persea americana Mill*)", *Jurnal MIPA UNSRAT*.
- Marjoni, R., 2016, "Dasar Fitokimia", Trans Info Media, Jakarta.
- Misnawi S., Jinap, Jamillah, dan Nazamid, 2002. "Effect of Incubation and Polyphenol Oxidase Enrichement of Unfermented and Partly Fermented Dried Cocoa Beans on Color, Fermentation Index and Epicatechin Content", *International Journal of Food Science and Technology*. 3.(8): 2-4.
- Mukhriani, 2014, Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif, *Jurnal Kesehatan*, 7(2)



- Munasir, Z dan Suyoko, EMD., 2010, "Reaksi Hipersensitivitas. Dalam : Akib AAP., Munazir Z., Kurniati, N., 2010. Buku Ajar Alergi-Imunologi Anak, Edisi II", Jakarta : Badan Penerbit IDAI, pp. 115-122.
- Nugroho, R. A., 2018, "Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium", Samarinda: Mulawarman University Press.
- Okada H., Kuhn C., Feillet H., Bach J.F., 2010, "The 'Hygiene Hypothesis' for Autoimmune and Allergic disease", *Cell Biophys*, Vol 160, pp. 1-9.
- Prescott S, Saffery R., 2011, "The Role of Epigenetic Dysregulation in the Epidemic of Allergy Disease", *Clin Epigenetic*. Vol 2 hal 223-231
- Pribadi, G.A., 2008, "Penggunaan Mencit dan Tikus Sebagai Hewan Model Penelitian Nikotin", *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Priyanto, 2010, "Toksikologi Ed:2", Depok: Leskonfi Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi.
- Purwaningsih, Budiarti, S. W., dan Suwanti, 2015, "Kontaminasi Fungi Aspergillus Sp. Pada Biji Jagung Ditempat Penyimpanan Dengan Kadar Air Yang Berbeda", Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Yogyakarta, Balai Penelitian Tanaman Serealia.
- Rukmana, H.R., Yudirachman, dan Herdi H., 2016, "Untung Selangit dari Agribisnis Kakao", Yogyakarta; Lily Publisher
- Retnomurti, H.P, 2008, "Pengujian Toksisitas Akut Ekstrak Buah Merah (*Pandanus conoideus Lam.*) Secara In Vivo", *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Halaman 29.
- Sabir, A., 2003, "Pemanfaatan Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi", *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal) vol 36, hal 81-87.*
- Santosa, H., 2010, "Asma Bronkial. Dalam : Akib AAP, Munasir Z, Nia K, 2010, Buku Ajar Alergi Imunologi Anak. Edisi II", Jakarta: Badan Penerbit IDAI, pp. 252- 256.
- Suckow, M.A., Danneman, P. & Brayton, C., 2010, "The Laboratory Mouse", Florida: CRC Press
- Sudewi N., dkk., 2009, "Berbagai Teknik Pemeriksaan untuk Menegakkan Diagnosis Penyakit Alergi", *Sari Pediatri*, Vol. 11, No. 3
- Soedarto, 2012, "Alergi dan penyakit sistem imun", Jakarta: Sagung Seto.
- Supriyono, 2007, "Pengujian LD₅₀ Ekstrak Etanol Biji Buah Duku (*Lansium domesticum Corr*) pada Mencit (*Mus musculus*)". *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Halaman 11-16.
- Suardita I., Diana C.M., Misnawi, 2014, "Efek Imunomodulasi Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao L*) terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritoneum Mencit yang Diinfeksi Bakteri *Staphylococcus epidermidis*", Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa
- Tarigan, I. D., 2019. "Uji Toksisitas Sub-Akut Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius Linn.*) Pada Mencit Putih". *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan.



- Tolistiawaty I., Widjaja J., Sumolang P., Octaviani, 2014, "Gambaran Kesehatan pada Mencit (*Mus musculus*) di Instalasi Hewan Coba", *Jurnal Vektor Penyakit*, Vol. 8 No. 1: 27 – 32
- Utama DS, 2010, "Hubungan Antara Jenis Aeroalergen dengan Manifestasi Klinis rinitis Alergi", *Tesis*, FK UNDIP, diambil dari <http://eprints.undip.ac.id/24041/>
- Wirasuta dan Niruri, 2006, "Toksikologi Umum", Bandung: Universitas Udayana
- Yuniati T, dan Sukadi, 2011, "Kejadian Atopi pada Bayi Usia 6 Bulan yang Mendapat Kombinasi ASI dan Susu Formula Mengandung Probiotik dan Nonprobiotik", *Bandung Medical Journal*, Vol 43, pp. 55-56