

The Effect of Ethanol Extracts of Jeruju (Holy Mangrove) Leaves (*Acanthus ilicifolius* L.) and Taurine on Hematopoiesis Profiles of Mice (*Mus musculus* L.) Induced by Alloxan

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) dan Taurin Terhadap Profil Hematopoiesis Mencit (*Mus musculus* L.) yang Diinduksi Aloksan

Budi Khoiri Ardiansyah¹, Endang Linirin Widiastuti*¹, Nuning Nurcahyani¹, Sutyarso¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung
Jl. Prof. Soemantri Brojonegoro Gedong Meneng, Rajabasa, Bandar Lampung, 35141

*Correspondent Author: endang.linirin@fmipa.unila.ac.id

ABSTRACT

The high exposure to free radicals and glucose blood levels in diabetes potentially damage the body cells and decrease body immune status that is shown by changes in the number of blood cells that can cause complications. The purpose of this research was to study the effect of ethanol extracts of jeruju (holy mangrove) leaves (*Acanthus ilicifolius* L.) and taurine on hematopoiesis profile by measuring the number of erythrocytes, the number of leukocytes and the leukocytes differential. This research used a Completely Randomized Design (CRD) by 5 treatments with 5 repetitions conducted for 14 days. The treatment groups were: K1 negative control, K2 positive control (alloxan induced only), P1 induced by alloxan and given 100% ethanol extract of jeruju leaves at dose of 22.4 mg/bb/day, P2 induced by alloxan and given 50% ethanol extract of jeruju leaves dose of 22.4 mg/bb/day, and P3 induced by alloxan and given taurine dose of 15.6 mg/bb/day. Data were analyzed by ANOVA and followed by LSD test at the 5% level. The results showed that the administration of jeruju and taurin can maintain the number of leukocytes and the number of lymphocyte cells that were close to normal after induced by alloxan. But has no effect in the number of erythrocytes in mice

Keywords : *Acanthus ilicifolius*, Alloxan, Hematopoiesis, Taurin

ABSTRAK

Tingginya paparan radikal bebas dan kadar glukosa darah pada penyakit diabetes berpotensi dalam merusak sel-sel tubuh dan menurunkan status imun tubuh yang ditandai dengan perubahan jumlah sel-sel darah hingga menyebabkan komplikasi. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh daun jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) dan taurin terhadap profil hematopoiesis dengan mengukur jumlah eritrosit, jumlah leukosit dan differensial leukosit. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan dan 5 ulangan yang dilakukan selama 14 hari. Kelompok perlakuan tersebut yaitu K1 sebagai kontrol negatif (tidak diberikan perlakuan), K2 sebagai kontrol positif (hanya diinduksi aloksan), P1 diinduksi aloksan dan diberi ekstrak etanol 100% daun jeruju dosis 22,4 mg/bb/hari, P2 diinduksi aloksan dan diberi ekstrak etanol 50% daun jeruju dosis 22,4 mg/bb/hari, P3 diinduksi aloksan dan diberi taurin dosis 15,6 mg/bb/hari. Data dianalisis menggunakan ANOVA dan uji lanjut LSD pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian bahan uji daun jeruju dan taurin mampu mempertahankan jumlah total leukosit dan jumlah sel limfosit mencit mendekati normal setelah diinduksi aloksan. Namun, tidak berpengaruh terhadap perubahan jumlah eritrosit mencit

Kata Kunci : *Acanthus ilicifolius*, Aloksan, Hematopoiesis, Taurin

PENDAHULUAN

Diabetes merupakan penyakit kronik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemik) akibat terganggunya sekresi hormon insulin. Tingginya kadar glukosa dalam darah berbanding lurus dengan peningkatan radikal bebas di dalam sel dan dapat bersifat toksik. Hal tersebut berpotensi menimbulkan penyakit lain (komplikasi) karena menurunnya sistem imun tubuh dan dapat menyebabkan kerusakan pada pembuluh darah (ADA, 2012; Chaiyasut *et al.*, 2011). Keadaan hiperglikemik dapat berpengaruh pada proses pembentukan sel darah (hematopoiesis) yang ditandai dengan perubahan sel-sel darah seperti leukosit khususnya jenis sel limfosit yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh (Fu *et al.*, 2005; Otton *et al.*, 2004). Selain leukosit, eritrosit juga berpotensi mengalami perubahan karena akan dihasilkan oksidan kuat seperti superoksida dan radikal hidroksil selama proses metabolisme. Oksidan-oksidan tersebut akan menimbulkan kerusakan sel dan dapat menurunkan jumlah eritrosit hingga berpotensi pada anemia jika tidak diimbangi dengan asupan antioksidan yang cukup di dalam tubuh (Zada, 2009; Sailaja *et al.*, 2003).

Salah satu upaya untuk meredam radikal bebas penyebab penyakit diabetes dan komplikasi pada sel-sel darah yaitu dengan menggunakan obat herbal atau tradisional yang memiliki kandungan antioksidan tinggi. Tumbuhan yang bisa dijadikan obat antidiabetes salah satunya adalah jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) yang dilaporkan memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, tanin dan alkaloid serta memiliki aktivitas antioksidan tinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 34,659 µg/mL (Nurfritri *et al.*, 2018; Handayani *et al.*, 2018). Selain jeruju, senyawa lain yang berpotensi sebagai agen antidiabetes yaitu taurin. Taurin adalah asam organik turunan dari asam amino sistein yang memiliki antioksidan tinggi untuk mencegah penyakit diabetes melalui mekanisme antioksidannya dan dapat memperbaiki pankreas dalam mensekresi insulin (Puerta *et al.*, 2010; Tasci *et al.*, 2007).

Pengembangan riset mengenai pemanfaatan jeruju dan taurin sebagai antioksidan yang berperan dalam meredam radikal bebas penyebab diabetes dan perubahan pada sel-sel darah perlu dikembangkan agar memberikan manfaat yang lebih banyak dan mendapatkan hasil yang terbaik. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi dari senyawa-senyawa tersebut dalam mencegah perubahan sel-sel darah karena keadaan hiperglikemik.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2020 hingga Februari 2020. Tahap pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler FMIPA dan Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Lampung. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan di Laboratorium MIPA Terpadu Universitas Lampung.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan dan 5 ulangan yang terdiri dari 5 ekor mencit jantan (*Mus musculus* L.) pada setiap perlakuan. Kelompok K1 sebagai kontrol negatif (mencit tidak diberi perlakuan hanya diberi pakan standar hingga akhir penelitian), kelompok K2 sebagai kontrol positif (mencit diinduksi aloksan 160 mg/kgbb tanpa diberikan bahan uji), kelompok P1 yaitu mencit yang diinduksi aloksan 160 mg/kgbb dan diberi ekstrak etanol 100% daun jeruju 22,4 mg/bb/hari, kelompok P2 yang diinduksi aloksan 160 mg/kgbb dan diberi ekstrak etanol 50% daun jeruju 22,4 mg/kg bb, kelompok P3 yaitu mencit yang diinduksi aloksan 160 mg/kgbb dan diberi taurin 15,6 mg/bb/hari. Pemberian bahan uji dilakukan selama 14 hari.

Persiapan Bahan Uji dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruju yang diperoleh dari pantai Mutun Pesawaran dan taurin (Now[®], US). Daun jeruju dipilih yang terbaik kemudian dibersihkan menggunakan air mengalir. Selanjutnya daun jeruju dikeringkan menggunakan oven pada suhu 30-40°C. Setelah kering daun jeruju digiling sampai memperoleh serbuk. Sebanyak 250 gram serbuk daun jeruju dimaserasi menggunakan 2 jenis pelarut yaitu

etanol pro analis 100% dan etanol teknis 50% sebanyak 2,5 liter selama 24 jam (perbandingan 1:10) hingga diperoleh maserat daun jeruju. Filtrat dipekatkan memakai *Rotary Evaporator* suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental dan dimasukkan ke dalam oven untuk mendapatkan ekstrak dalam bentuk pasta. Kemudian ekstrak dilarutkan menggunakan CMC 1%. Sedangkan untuk bahan uji taurin dilarutkan menggunakan aquades hangat secara perlahan. Alat yang digunakan antara lain, set alat pemeliharaan mencit, alat-alat gelas, alat maserasi dan ekstraksi bahan uji, serta set alat pengambilan dan penghitungan sampel darah (jarum suntik, mikropipet, *Hemacytometer Neubauer*).

Persiapan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit jantan berumur 2-3 bulan dengan berat $\pm 30-40$ gram. Mencit diperoleh dari Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung. Mencit diaklimatisasi selama 7 hari dan diberi pakan standar serta air minum secara *ad libitum* sebelum diberikan perlakuan, hal ini bertujuan agar mencit dapat menyesuaikan dengan kondisi kandang.

Induksi Aloksan dan Pemberian Bahan Uji

Mencit dikondisikan diabetes dengan cara diinduksi aloksan dosis 160 mg/kgbb secara subkutan dibagian tengkuk. Mencit yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mencit yang mengalami hiperglikemik dengan kadar glukosa ≥ 200 mg/dL. Setelah mengalami peningkatan kadar glukosa darah, mencit diberikan ekstrak etanol daun jeruju dan taurin secara oral selama 14 hari.

Perhitungan Jumlah Eritrosit, Leukosit, dan Diferensiasi Leukosit

Jumlah eritrosit dihitung dengan cara mengambil 0,5 μ l darah, kemudian dilarutkan pada larutan Hayem dengan volume 100,5 μ l (Pengenceran 200x). Sedangkan leukosit dihitung dengan cara mengambil 0,5 μ l darah, kemudian dilarutkan pada larutan Turk dengan volume 10,5 μ l (Pengenceran 20x). Setelah itu, suspensi darah ditetaskan pada haemositometer sebanyak 10 μ l. Jumlah eritrosit dihitung pada 5 kotak kecil dalam kotak besar di tengah sedangkan leukosit dihitung pada 4 kotak besar bagian tepi (Widiastuti *et al.*, 2019). Menurut Tambur (2006) jumlah total sel dihitung dengan rumus :

$$\text{Jumlah sel per mm}^3 = \frac{N}{V} \times P$$

Keterangan : N (jumlah eritrosit ataupun leukosit pada seluruh kotak hitung);

V (Volume kotak hitung yaitu 0,02 mm³ untuk eritrosit dan 0,4 mm³ untuk leukosit);

P (pengenceran)

Untuk menghitung diferensial leukosit, dibuat preparat apusan darah terlebih dahulu yang telah difiksasi selama 5 menit menggunakan metanol, kemudian dilakukan pewarnaan dengan giemsa selama 30 menit. Preparat apusan darah diamati pada mikroskop perbesaran 400x, kemudian dihitung sebanyak 100 sel dan ditentukan persentase setiap jenis sel nya (limfosit, monosit, neutrofil, basofil, dan eusinofil).

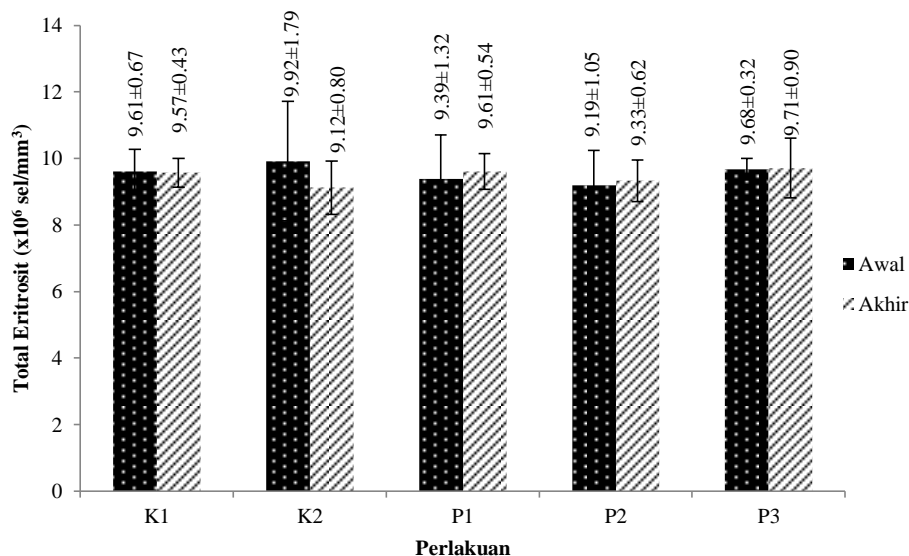
Analisis Data

Data hasil penelitian jumlah total eritrosit, jumlah total leukosit dan differensial leukosit dianalisis dengan metode statistik *One Way ANOVA (Analysis of Variance)* dan uji lanjut *LSD (Least Significant Difference)* pada taraf nyata 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Eritrosit Mencit (*Mus musculus L.*)

Hasil perhitungan rerata jumlah eritrosit mencit seluruh kelompok baik sebelum (awal) dan sesudah (akhir) perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1.

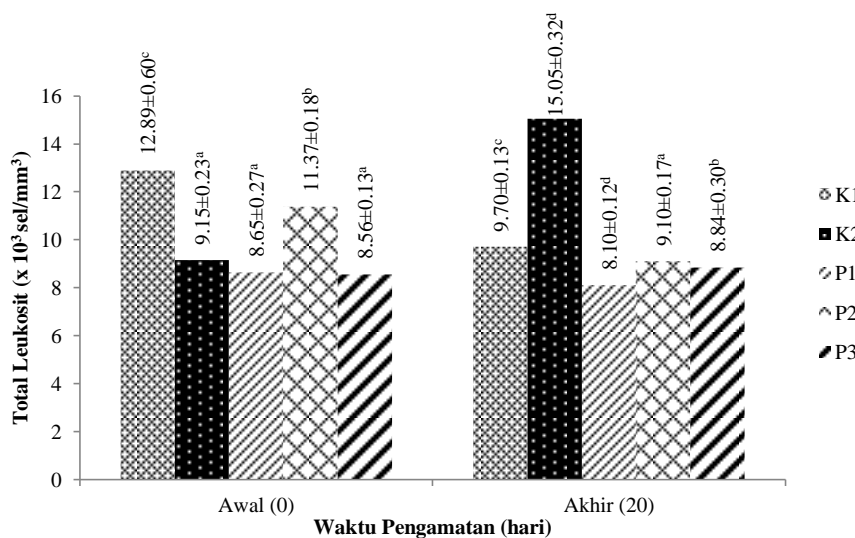


Gambar 1. Rerata Jumlah Eritrosit Mencit (*Mus musculus*)

Gambar 1 terlihat bahwa rerata eritrosit mencit seluruh kelompok perlakuan berada pada kisaran 9 juta sel/mm³. Nilai tersebut menunjukkan bahwa jumlah rerata eritrosit masih dalam kisaran normal baik di awal dan di akhir penelitian. Hal ini sesuai dengan penelitian Schnell *et al.* (2002), menyatakan bahwa jumlah eritrosit normal mencit jantan yang diambil melalui vena cava berkisar 7-9 juta sel/mm³. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian bahan uji ekstrak etanol daun jeruju, dan taurin belum mampu memberikan perubahan dan pengaruh yang nyata terhadap nilai eritrosit. Hasil analisis statistik *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa tidak terjadi perbedaan yang nyata atau signifikan antar kelompok perlakuan ($p > 0.05$) terhadap rerata jumlah eritrosit pada mencit.

Jumlah Leukosit Mencit (*Mus musculus* L.)

Hasil analisis statistik *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p \leq 0.05$) terhadap rerata jumlah leukosit mencit baik diawal dan akhir penelitian. Jumlah rerata leukosit awal dan akhir seluruh kelompok perlakuan terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Rerata Jumlah Leukosit Mencit (*Mus musculus*)

Berdasarkan Gambar 2, hasil pengukuran leukosit awal mencit berkisar 8-12 ribu sel/mm³. Menurut McGarry (2010) jumlah leukosit mencit normal berkisar 5 – 12 ribu sel/mm³. Hasil ini menunjukkan bahwa diawal penelitian jumlah leukosit mencit seluruh kelompok perlakuan masih dalam keadaan normal. Setelah diinduksi aloksan dan diberikan bahan uji selama 14 hari, terdapat perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil uji lanjut LSD, pada kelompok perlakuan K2 (kelompok yang hanya diinduksi aloksan tanpa diberikan bahan uji) mengalami kenaikan jumlah rerata leukosit tertinggi dibandingkan kelompok yang lain yaitu sebesar 15.05 x 10³ sel/mm³ dan berbeda nyata dengan kelompok K1 (kelompok mencit normal), kelompok P1 (kelompok yang diinduksi aloksan kemudian diberikan ekstrak etanol 100% daun jeruju), P2 (kelompok yang diinduksi aloksan kemudian diberikan ekstrak etanol 50% daun jeruju, dan kelompok P3 (kelompok yang diinduksi aloksan kemudian diberikan taurin).

Pada kelompok perlakuan yang hanya diinduksi aloksan dosis 160 mg/kgbb secara subkutan tanpa pemberian bahan uji (K2) menunjukkan adanya peningkatan kadar glukosa darah diatas 300 mg/dL (*unpublished data*) dan diikuti dengan peningkatan jumlah rerata leukosit mencit. Kadar glukosa darah yang tinggi pada mencit diduga dapat menurunkan fungsi sel leukosit sehingga rentan terhadap infeksi dan inflamasi. Dengan demikian dapat menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah leukosit.

Stres oksidatif akibat induksi aloksan erat kaitannya dengan terjadinya kerusakan jaringan yang dapat memicu terjadinya reaksi inflamasi terhadap organ yang mengalami peradangan. Akibatnya, terjadi peningkatan jumlah leukosit (leukositosis) sebagai penanda adanya inflamasi kronis, subklinis, inflamasi tingkat rendah, dan sebagai bentuk respon untuk melawan zat asing dalam mempertahankan kondisi tubuh (Bonaterra *et al.*, 2015; Makker *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2005; Dorlan, 2002). Hasil penelitian ini sejalan dengan Vozarova *et al.* (2002), menyatakan bahwa stres akibat diabetes dapat menyebabkan peningkatan jumlah leukosit yang berhubungan dengan peradangan dan resistensi insulin.

Dalam penelitian ini, pemberian bahan uji ekstrak etanol daun jeruju dan taurin pada kelompok P1, P2, P3 menunjukkan pengaruh dan terlihat cukup efektif untuk mempertahankan jumlah leukosit dalam kisaran normal seperti di awal penelitian. Senyawa antioksidan daun jeruju memiliki kemampuan sebagai agen antiinflamasi dalam mencegah peradangan dan melindungi sel-sel leukosit terhadap radikal bebas yang ditimbulkan aloksan. Hasil penelitian ini sejalan dengan Widiastuti *et al.* (2019), menyatakan bahwa senyawa antioksidan saponin, tanin, *cardiac* glikosida, terpenoid, flavanoid, anthraquinon dan alkaloid yang terkandung dalam ekstrak daun jeruju dapat menekan rerata jumlah leukosit hingga mendekati kisaran normal. Senyawa flavonoid dapat bertindak sebagai penampung radikal hidroksil dan superoksida dalam sel darah sehingga melindungi lipid membran dan menjadi salah satu agen lipofilik yang dapat berinteraksi dengan lipid membran serta mempengaruhi respon dari sel imun (Sundaryono, 2011). Sementara taurin mampu menekan dan mempertahankan jumlah leukosit dengan mengurangi terjadinya radikal bebas akibat induksi aloksan. Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa pemberian taurin mampu mengembalikan jumlah leukosit mencit yang diinduksi benzo(a)piren mendekati jumlah pada kelompok normal (Hervidea *et al.*, 2018; Marlinda *et al.*, 2016; Maysa *et al.*, 2018).

Diferensiasi Leukosit Mencit (*Mus musculus L.*)

Hasil analisis statistik *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan nyata antar kelompok perlakuan ($p \leq 0.05$) pada persentase jumlah limfosit. Namun tidak berbeda nyata pada persentase jumlah neutrofil, monosit, eosinofil, maupun basofil. Hasil uji lanjut LSD menunjukkan bahwa kelompok perlakuan yang diinduksi aloksan secara subkutan menurunkan persentase jumlah limfosit dibandingkan kelompok normal (K1) seperti yang tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Persentase Jumlah Differensial Leukosit Mencit

Kelompok Perlakuan	Rerata Persentase Jumlah Differensial Leukosit (Mean \pm SEM)				
	Monosit	Limfosit	Neutrofil	Eosinofil	Basofil
K1	1.80 \pm 1.11	74.20 \pm 0.58 ^c	23.80 \pm 4.22	0.20 \pm 0.20	0.00 \pm 0.00
K2	5.00 \pm 2.21	65.20 \pm 0.80 ^b	29.40 \pm 4.96	0.40 \pm 0.40	0.00 \pm 0.00
P1	1.60 \pm 0.68	71.80 \pm 0.74 ^b	26.60 \pm 3.47	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
P2	5.40 \pm 1.29	66.20 \pm 0.20 ^a	36.20 \pm 5.83	0.60 \pm 0.25	0.00 \pm 0.00
P3	0.80 \pm 0.50	67.40 \pm 1.12 ^a	33.20 \pm 6.45	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00

Keterangan: *Superscript* yang berbeda pada lajur yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan $P \leq 0,05$

Induksi aloksan memicu peningkatan radikal bebas yang berakibat pada stres oksidatif hingga menyebabkan kerusakan pada sel limfosit yang mengindikasikan bahwa status imun tubuh semakin rendah. Oliviany (2009) menyatakan bahwa terjadi penurunan limfosit pada kelompok tikus yang diinduksi aloksan sebesar 4.260 sel/mL secara bermakna. Sejalan dengan hal tersebut hasil penelitian Dewi *et al.* (2014) juga mengungkapkan bahwa terjadi perbedaan jumlah limfosit yang signifikan antara mencit normal dan mencit yang mengalami diabetes yang menandakan adanya penurunan imunitas seluler pada mencit diabetes. Menurut Oliviany (2009); Fu *et al.* (2005) kerusakan sel limfosit terjadi melalui beberapa mekanisme gangguan pada membran sel limfosit, apoptosis, dan fragmentasi DNA dari inti sel limfosit.

Pemberian bahan uji menunjukkan adanya kemampuan dalam mempertahankan dan meningkatkan jumlah limfosit hingga mendekati jumlah normal. Bahan uji yang cukup efektif dalam meningkatkan jumlah limfosit adalah kelompok perlakuan P1 ekstrak etanol 100% daun jeruju dosis 22,4 mg/bb/hari yaitu sebesar 71.80 % mendekati kelompok mencit normal (K1). Keadaan hiperglikemik dapat menurunkan sistem imun dan merusak sel limfosit. Adanya senyawa antioksidan yang terkandung dalam bahan uji dapat mengurangi risiko pembentukan radikal bebas yang berlebihan penyebab hiperglikemik sehingga kerusakan pada sel limfosit dapat dihindari dan dapat meningkatkan kualitas dari limfosit. Sejalan dengan hal tersebut Marlinda *et al.* (2016) juga menyatakan bahwa pemberian taurin secara preventif mampu memberikan perlindungan terhadap limfoblast sel darah putih sehingga mampu meningkatkan daya hidup limfosit dengan persentase jumlah limfosit pada hewan uji sebesar 75.00 ±14.30%.

SIMPULAN

Pemberian bahan uji ekstrak etanol daun jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) dosis 22.4 mg/bb/hari dan taurin dosis 15.6 mg/bb/hari selama 14 hari pada mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi aloksan mampu mempertahankan jumlah total leukosit dan meningkatkan jumlah limfosit. Namun demikian, tidak menunjukkan adanya perubahan terhadap jumlah eritrosit.

DAFTAR PUSTAKA

- [ADA] American Diabetes Assosation., 2012. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 33(Suppl 1): S62-S69.
- Bonatterra, G.A., Zügel, S., Kinscherf, R., 2010. Novel Systemic Cardiovascular Disease Biomarkers. *Curr Mol Med.*;10:180–205.
- Chaiyasut, C., Kusirisin, W., Lailerd, N., Lertrakarnoon, P., Suttajit, M., Srichairatanakool, S., 2011. Effect of phenolic compounds of fermented Thai indigenous plants on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Research Article*. 15(2):118123.
- Dewi, A.K., Rahardjo, I.B., Gunawan, A., 2014. Perbedaan Jumlah Limfosit Daerah Pals (*Periarterial Lymphoid Sheat*) Antara Mencit Sehat dan Mencit Diabetes. *Majalah Biomorfologi*. 27(1)
- Dorland, W.A.N., 2002. Kamus Kedokteran Dorland Terjemahan. EGC. Jakarta.
- Fu, M.C., Jack, C.R.T., Dao, M.C., Shyi, J.S., Yau, J.L., 2005. Peripheral Total and Differential Leukocyte Count in Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care*, 28(7): 1710-17.
- Handayani, S., Najib, A., Purnamawati, N., 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Daruju (*Acanthus Ilicifolius* L.) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil (Dpph). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(2).
- Herveida, R., Widiastuti, E.L., Nurcahyani, E., Sutyarso, Susanto, G.N., 2018. Efek Ekstrak Metanol Makroalga Cokelat (*Sargassum* sp.), Merah (*Gracillaria* sp.) dan Taurin Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Mencit Jantan (*Mus musculus*) yang Diinduksi Benzo(a)Piren. *Jurnal Biologi Indonesia*, 14(1): 123-13
- Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C., Robbins, S.L., 2005. Robbins Basic Pathology. Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Makker, K., Agarwal, A., Sharma, R.K., 2009. Oxidative Stress and Male Infertility. *Indian J Med Res*.129(4):357– 67.

- Marlinda, H., Widiastuti, E.L., Susanto, G.N. dan Sutyarso.,** 2016. Pengaruh Pemberian Senyawa Taurin dan Ekstrak Daun Dewa *Gynura segetum (Lour) Merr* terhadap eritrosit dan Leukosit Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi Benzo[α]Piren. *Jurnal Natur Indonesia* 17.
- Maysa, A., Widiastuti, E.L., Busman, H.,** 2016. Uji Senyawa Taurin Sebagai Antikanker Terhadap Jumlah Sel-Sel Leukosit Dan Sel-Sel Eritrosit Mencit (*Mus musculus* L.) yang Diinduksi Benzo (A) Pyren Secara In Vivo. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 16(2):68-75
- McGarry, M.P., Protheroe, C.A., Lee, J.J.,** 2010. *Mouse Hematology: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- Nurfitri, W.A., Widiastuti, E.L., dan Nurcahyani, E.,** 2018. Efek Ekstrak Metanol Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) serta Buah Jeruju dan Taurin dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah dan Kolesterol serta Fertilitas Mencit Jantan (*Mus musculus*) yang Diinduksi Alokstan. *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia ke-55 Universitas Tidar dan Kelompok Kerja Nasional Tumbuhan Obat Indonesia*.
- Oliviany, W.,** 2009. Pengaruh Diet Rumput Laut *Eucheuma* sp. Terhadap Jumlah limfosit Tikus Wistar dengan Diabetes Alokstan. *Jurnal Kedokteran Universitas Diponegoro*.
- Otton, R., Soriano, F.G., Verlengia, R., Curi, R.,** 2004. Diabetes Induces Apoptosis in Lymphocytes. *Journal of Endocrinology*, 182: 145-146.
- Puerta, F.J., Arrieta, J.A., Balsa, J.I., Botella-Carretero, Zamarron., Vazquez, C.,** 2010. Taurine and glikose metabolism : A review 25 (6) 910-919.
- Sailaja, Y.R., Baskar, R., Saralakumari, D.,** 2003. The antioxidant status during maturation of reticulocyte to erythrocyte in type 2 diabetics. *Free Radical Biology and medicine* 15: 35(2): 133-39.
- Schnell, M.A., C. Hardy, M. Hawley, K.J. Propert., Wilson J.M.,** 2002. Effect of Blood Collection Technique in Mice on Clinical Pathology Parameters. *Human Gene Therapy*, 13:155-162
- Sundaryono, A.,** 2011. Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid Total *Darigynura segetum* (Lour) Terhadap Peningkatan Eritrosit dan Penurunan leukosit pada mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Exacta*, 9(2)
- Tambur, Z.,** 2006. White Blood Cell Differential Count in Rabbits Artificially Infected with Intestinal Coccidia. *J. Protozool. Res* 16: 42-50.
- Tasci, I., Mas, M.R., Vural, S.A., Deveci, S., Comert, B.G., Alcigir, N., Mas, C., Akay, M., Bozdayi, C., Yurdaydin, H., Bozkaya, O., Uzunlimoglu, A.T., Isik, H.M., Said.,** 2007. Pegylated interferon-alpha plus taurine in treatment of rat liver fibrosis. *World Journal of Gastroenterology* 13: 3237-3244.
- Vozarova, B., Weyer C., Lindsay R.S., Pratley R.E., Bogardus C., Tatarani, P.A.,** 2002. High white blood cell count is associated with a worsening of insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes*, 51: 455-461.
- Widiastuti, E.L., Khairani, I.A., Cristianto, Y., Nurcahyani, E., Nurcahyani, N., Satria, H.,** 2019. Efek Ekstrak Metanol Daun Jeruju, Lamun, dan Taurin Terhadap Darah, serta Histopatologi Hepar Mencit Jantan yang Diinduksi Benzo(A)Piren. *Jurnal Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Lampung*.
- Zada, A.,** 2009. Pengaruh Diet Rumput Laut *Eucheuma* sp. Terhadap Jumlah Eritrosit Tikus Wistar dengan Diabetes Alokstan. *Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang*.