



Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Permot (*Passiflora foetida* L.) dengan Parameter *Delayed Type Hypersensitivity*

Sitti Hadijah¹, Nurul Mukhlisa², Djulfikri Mewar³

^{1,2}Fakultas Farmasi, Universitas Megarezky Makassar

³Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Maluku Husada

*Corresponding Author: sittihadijah@unimerz.ac.id.

Keyword:
Immunomodulator;
Passiflora foetida L;
Delayed Type
Hypersensitivity.

Kata Kunci:
Imunomodulator;
Passiflora foetida L;
Delayed Type
Hypersensitivity.

Abstract: Immunomodulatory is a particular compound can regulate or balance the body's defense mechanisms, both adaptive and innate immune, either through the cellular defense mechanisms or humoral. This study aimed to determine the immunomodulatory effects of permot leaves ethanol extract (*Passiflora foetida* L.) with Delayed Type Hypersensitivity parameter. This research used 15 male mice divided into 5 groups. Group I as normal group (without treatment), Group II induced by sheep red blood cell (SRBC 10% v/v), Group III, IV, and V (treatment group) were given EEDP with each dosage of 0,4 g/KgBW, 0,8 g/KgBW, and 1,2 g/KgBW. Provision of the test preparation was administrated orally for 7 days. On day 3 and 7 the mice induced by SRBC 10% v/v intraperitoneally and intraplantar. Observations were made by measuring in the volume of mice's legs the 4th, 24th, and 48th hour. Data were analyzed statistically using the Kruskal-Wallis method then continued with test Mann-Whitney, data obtained revealed that the EEDP group with the dosage of 0,4 g/KgBW, 0,8 g/KgBW, and 1,2 g/KgBW showed no significant difference ($p>0,05$). Based on the result it can be concluded that EEDP can provide effective immunomodulatory effects at a dose of 0,4 g/KgBW, 0,8 g/KgBW, and 1,2 g/KgBW.

Abstrak: Imunomodulator adalah senyawa tertentu yang dapat mengatur atau menyeimbangkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non-spesifik, baik melalui mekanisme pertahanan seluler maupun humoral. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efek imonomodulator ekstrak etanol daun permot (*Passiflora foetida* L.) dengan parameter *Delayed Type Hypersensitivity*. Penelitian ini menggunakan 15 ekor mencit jantan dibagi dalam 5 kelompok yang terdiri dari 3 ekor mencit. Kelompok I sebagai kelompok normal (tanpa perlakuan), kelompok II (diinduksi SDMD 10% v/v), kelompok III, IV dan V (kelompok perlakuan) yang diberi EEDP dengan dosis masing-masing 0,4 g/KgBB, 0,8 g/KgBB dan 1,2 g/KgBB. Pemberian sediaan uji diberikan secara oral selama 7 hari. Pada hari ke-3 dan hari ke-7, hewan uji diinduksi dengan SDMD 10% v/v secara intraperitoneal dan intraplantar. Pengamatan dilakukan dengan mengukur perubahan volume kaki mencit pada jam ke-4, ke-24 dan ke-48. Data penelitian diolah secara statistik dengan metode *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*, diperoleh bahwa kelompok EEDP dosis 0,4 g/KgBB, 0,8 g/KgBB, dan 1,2 g/KgBB menunjukkan tidak berbeda nyata ($p>0,05$). Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa EEDP dapat memberikan efek imunomodulator dengan dosis efektif 0,4 g/KgBB, 0,8 g/KgBB, dan 1,2 g/KgBB.

PENDAHULUAN

Respon hipersensitivitas tipe lambat merupakan respon imun seluler yang melibatkan aktivasi sel Th yang akan melepaskan sitokin yang bersifat proinflamasi dan meningkatkan aktivitas makrofag untuk melepaskan mediator-mediator peradangan. Sel T_{dh} (*delayed hypersensitivity*) adalah sel yang berperan pada penerahan makrofag dan sel inflamasi lainnya ke tempat terjadinya reaksi lambat. Dalam fungsinya, memerlukan ransangan dari sel Th1. Uji respon hipersensitivitas merupakan pengujian efek imunomodulator terkait dengan respon imun spesifik (Baratawidjaja, 2012). Upaya mempertahankan sistem imun tetap maksimal menjadi sangat penting sehingga mampu menghadapi serangan zat asing seperti mikroorganisme patogen. Salah satu cara mempertahankan sistem imun adalah dengan pemberian imunomodulator (Kusmardi, 2007).

Imunomodulator adalah senyawa tertentu yang dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non-spesifik, melalui mekanisme pertahanan seluler maupun humoral (Subowo, 2009). Adanya senyawa-senyawa kimia yang dapat meningkatkan aktivitas sistem imun sangat membantu untuk merangsang atau memperbaiki sistem imun dan senyawa-senyawa tersebut dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan.

Salah satu tumbuhan yang mengandung senyawa obat yaitu permot (*Passiflora foetida* L.). Komponen utama tanamann permot (*Passiflora foetida* L.) berupa alkaloid, fenol, flavanoid glikosida dan komponen *cyanogenic* (Dhawan *et al.*, 2004) dan *passifloricin*, *polyketida* dan *alfa-pyrones* (Echeverri *et al.*, 2001) yang mana terdapat senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai antioksidan. Tanaman permot (*Passiflora foetida* L.) telah diuji aktivitas antioksidan oleh Yudho (2014) yaitu menunjukkan dosis ekstrak etanol daun permot (*Passiflora foetida* L.) yang paling efektif sebagai antioksidan adalah dosis 400 mg/kgBB. Diduga aktivitas antioksidannya dari kandungan senyawa fenolik. Antioksidan berperan penting dalam mencegah peningkatan produksi proinflamatori sitokin, yang merupakan hasil pengaktifan dari respon pertahanan tubuh. Dimana Antioksidan dapat berfungsi untuk memodulasi sistem imun yang dapat meningkatkan respons imun, jumlah dan fungsi sel-sel yang berperan dalam sistem imun (Massimino *et al.*, 2001; Silalahi, 2002). Telah diketahui bahwa tanaman permot (*Passiflora foetida* L.) memiliki kemampuan sebagai antioksidan dengan nilai IC₅₀ yaitu 1,0004 mg/ml (Emelda A., 2015).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini menggunakan parameter *delayed type hypersensitivity* untuk menguji aktivitas imunomodulator ekstrak etanol tanaman permot (*Passiflora foetida* L.) pada mencit sehingga dapat menambah referensi penggunaan imunomodulator dari tanaman untuk mencegah berbagai penyakit dan menambah inventaris tanaman obat yang berkhasiat sebagai imunomodulator.

METODE PENELITIAN

Prosedur Kerja

1. Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel yang digunakan diperoleh dari Kota Makassar, Propinsi Sulawesi Selatan. Daun Permot (*Passiflora poetida* L.) dibersihkan dari kotoran dengan menggunakan air yang mengalir, setelah itu daun permot yang telah bersih dipotong-potong kecil kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak terkena sinar matahari langsung.

2. Pembuatan Ekstrak Daun Permot (*Passiflora foetida* L.).

Serbuk simplisia daun permot (*Passiflora foetida* L.) ditimbang sebanyak 500 gram dan dimasukkan dalam wadah maserasi. Dimasukkan pelarut etanol 70% sebanyak dua liter ke dalam wadah maserasi sehingga serbuk simplisia terbasahi dan terendam. Didiamkan selama 1 x 24 jam, sambil sekali-sekali diaduk dalam 6 jam, kemudian didiamkan selama 18 jam. Dipisahkan maserat dengan cara disaring, kemudian ampasnya dimaserasi kembali sekurang-kurangnya 2 kali dengan pelarut yang sama. Hasil maserasi dikumpulkan dan diuapkan dengan menggunakan rotavapor untuk mendapatkan ekstrak kental (Depkes RI, 2010).

3. Pembuatan Bahan Penelitian

a) Pembuatan Sediaan Uji

Ekstrak daun permot (*Passiflora foetida* L.) yang telah diperoleh, dibuat dalam dosis 0,4 g/kgBB, 0,8 g/kgBB, dan 1,2 g/kgBB. Untuk membuat ekstrak dengan dosis 0,4 g/kgBB, ditimbang 0,12 g ekstrak dan dilarutkan dalam 5 ml Na-CMC 1% b/v. Untuk dosis 0,8 g/kgBB dan 1,2 g/kgBB masing-masing ditimbang ekstrak sebesar 0,24 g dan 0,36 g yang dilarutkan dalam 5 ml Na-CMC 1% b/v.

b) Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah Domba (SDMD) 10% v/v

Sebanyak 1 mL darah domba ditampung dalam tabung yang bersih dan telah dikeringkan yang berisi dengan 1 mg EDTA sebagai antikoagulan. Kemudian disentrifus pada kecepatan 1500 rpm untuk memisahkan sel darah merah domba (SDMD) dari plasmanya. Sel darah merah domba yang didapatkan dicuci dengan PBS dalam tabung, lalu tabung tersebut dibolak-balik beberapa kali, kemudian disentrifus kembali. Pencucian dilakukan paling sedikit 3 kali. Setelah disentrifus, PBS dipisahkan sehingga yang tertinggal adalah SDMD 100%, lalu ditambahkan lagi PBS dengan jumlah yang sama hingga diperoleh suspensi SDMD 50%, kemudian dipipet 2 mL, diencerkan dan dicukupkan dengan 8 mL PBS hingga diperoleh suspensi antigen dengan konsentrasi SDMD 10 % v/v (Manggau, 2011)

4. Pemilihan Dan Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan telah diadaptasikan selama \pm 2 minggu yang diberi makan dan minum secukupnya. Sebanyak 15 ekor mencit (*Mus musculus*) dibagi dalam 5 kelompok perlakuan, untuk masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor mencit. Kelompok I kontrol normal, kelompok II pembanding diberi suspensi SDMD 10% v/v, kelompok III diberi ekstrak etanol daun permot dengan dosis 0,4 g/kgBB, kelompok IV dengan dosis 0,8 g/kgBB, dan kelompok V dengan dosis 1,2 g/kgBB.

5. Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Hewan Uji yang telah disiapkan diberi perlakuan. Untuk kelompok I (kontrol normal) dibiarkan tanpa perlakuan, kelompok II diberi air suling (kontrol SDMD 10% v/v), kelompok III hewan diberi ekstrak daun permot dengan dosis 0,4 g/kgBB, kelompok IV 0,8 g/kgBB dan kelompok V 1,2 g/kgBB. Pemberian sediaan ekstrak uji diberikan selama tujuh hari secara peroral sesuai dengan volume pemberiannya. Penginduksian antigen SDMD 10% v/v dilakukan pada hari ketiga secara intraperitoneal sebanyak 1 mL dan pada hari ketujuh secara intraplantar sebanyak 0,1 mL untuk semua kelompok perlakuan kecuali kelompok normal. Pengukuran edema kaki belakang mencit dilakukan pada jam ke-4, -24, dan -48 setelah induksi antigen dengan menggunakan pletismometer dan jangka sorong (Faradila, 2013).

Analisis Data

Data hasil pengukuran perubahan volume kaki mencit pada jam ke-48 dianalisis secara statistik pada uji distribusi normal (uji *Shapiro-Wilk*). Hasil analisis menyatakan data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) (Tabel 4.) maka data tersebut dianalisis statistik secara *Kruskal-Wallis* dan uji lanjutan *Mann-Whitney*.

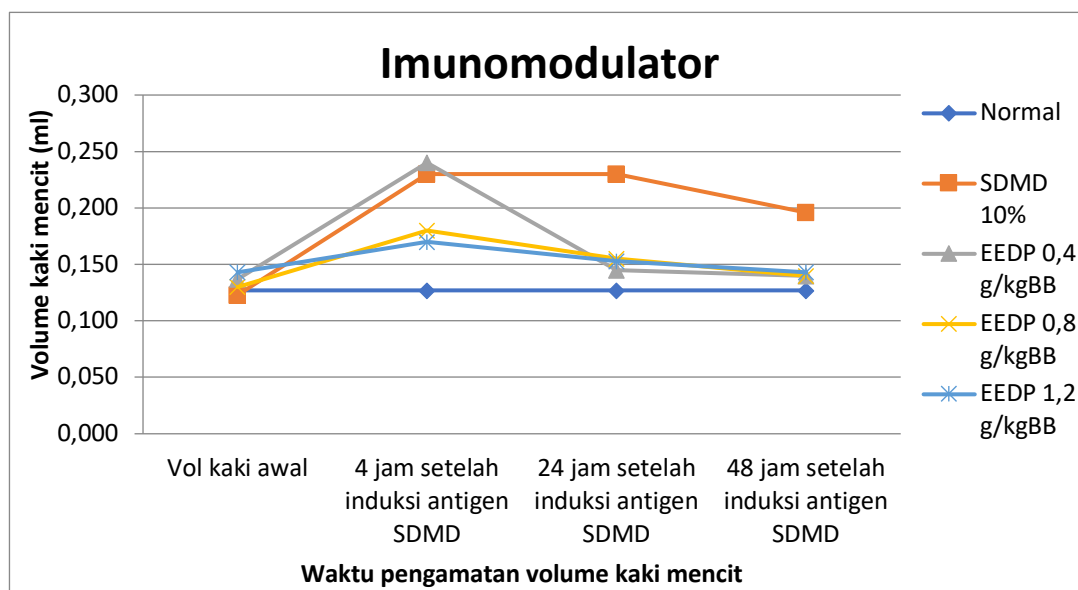
HASIL DAN DISKUSI

Dari hasil penelitian efek imunomodulator ekstrak etanol daun permot (*Passiflora foetida* L.) dengan menggunakan parameter *Delayed Type Hypersensitivity* adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil pengukuran rata-rata perubahan volume kaki mencit setelah pemberian antigen

Kelompok	Waktu pengamatan volume kaki mencit			
	Vol kaki awal + SD	T4 + SD	T24 + SD	T48 + SD
I. (Na CMC 1% b/v)	0,12±0,011	0,12±0,011	0,12±0,011	0,12±0,011
II. SDMD 10% v/v)	0,12±0,015	0,23±0,011	0,23±0,011	0,19±0,011
III. (EEDP 0,4 g/kgBB)	0,13±0,005	0,24±0,017	0,14±0,04	0,14±0,005
IV. (EEDP 0,8 g/kgBB)	0,13±0,011	0,18±0,011	0,15±0,005	0,14±0,005
V. (EEDP 1,2 g/kgBB)	0,14±0,005	0,17±0,017	0,15±0,005	0,14±0,005

Data hasil pengukuran rata-rata perubahan volume kaki pada waktu T₀, T-4, T-24, dan T-48 untuk setiap kelompok perlakuan setelah pemberian antigen diplot menggunakan grafik dibawah ini.

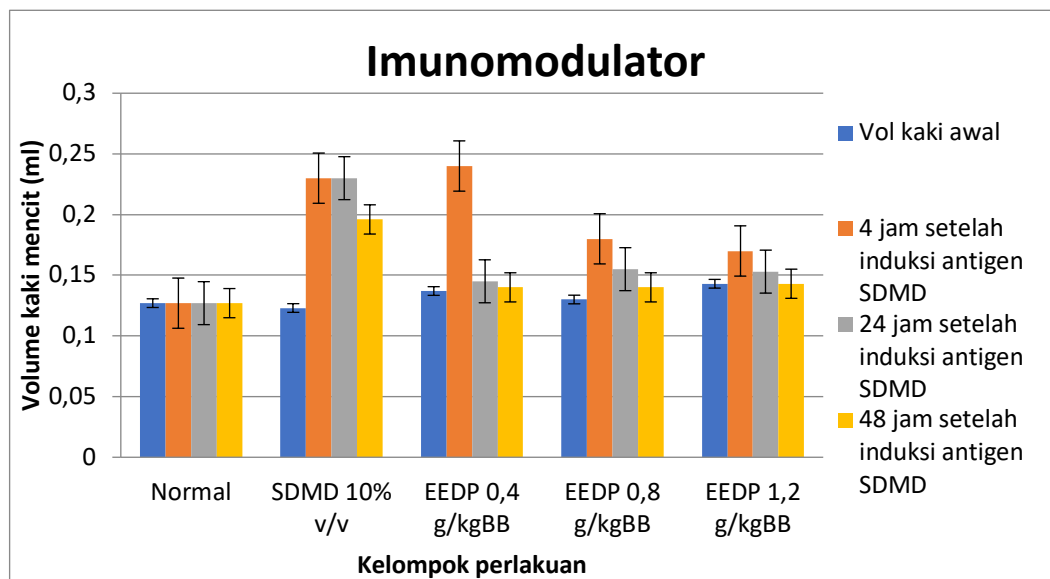


Gambar 2 : Grafik pengukuran rata-rata perubahan volume kaki pada waktu T₀, T-4, T-24, dan T-48 untuk setiap kelompok perlakuan setelah pemberian antigen.

Berdasarkan hasil penelitian dilihat dari rata-rata penurunan volume kaki mencit (*Mus musculus*) dari tiap kelompok yang terdapat pada tabel 1 menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan memiliki volume kaki yang normal dan setelah diinduksi SDMD 10% v/v mengalami peningkatan volume kaki yang menandakan proses peningkatan imunitas telah dimulai. Kelompok dosis yang diberikan ekstrak memberikan peningkatan volume kaki lebih besar dibandingkan dengan kelompok SDMD 10% v/v. Kelompok ekstrak 0,4 g/kgBB menunjukkan peningkatan volume kaki paling tinggi dan kelompok ekstrak 1,2 g/kgBB menunjukkan peningkatan volume kaki paling rendah. Hasil penelitian ini menunjukkan pada jam ke-4 kelompok EEDP 0,4 g/kgBB memperlihatkan telah terjadi penurunan efektifitas dari pemberian ekstrak. Kelompok ekstrak 0,4 g/kgBB pada jam ke-4 memperlihatkan efek peningkatan sistem imun yang tinggi, peningkatan volume kaki ini disebabkan oleh aktivasi makrofag oleh IL-2 dan sitokin proinflamasi lain seperti IL-12 yang menginduksi reaksi inflamasi pada telapak kaki

hewan coba mencit akibat paparan ulang antigen SDMD yang sudah dikenal oleh sistem imun hewan coba (Baratawidjaya, 2012). Proses inflamasi akan berjalan sampai antigen dapat di eliminasi.

Data hasil pengukuran rata-rata perubahan volume kaki pada waktu T₀, T-4, T-24, dan T-48 untuk setiap kelompok perlakuan setelah pemberian antigen diplot menggunakan grafik dibawah ini :



Gambar 3 : Grafik pengukuran rata-rata perubahan volume kaki pada waktu T₀, T-4, T-24, dan T-48 untuk setiap kelompok perlakuan setelah pemberian antigen.

Perubahan volume kaki pada jam ke-24 untuk melihat reaksis hipersensitivitas yang berlangsung lambat. Hasil penelitian dapat dilihat pada tabel 1 menunjukkan peningkatan volume kaki jam ke-24 lebih rendah dari jam ke-4. Peningkatan volume kaki kelompok ekstrak lebih rendah dibandingkan kelompok SDMD 10% v/v yang menandakan bahwa kondisi volume kaki yang mulai kembali seperti semula. Respon inflamasi dikontrol oleh sitokin anti-inflamasi yaitu IL-4 yang mencegah aktivasi makrofag dan TGF- β yang mencegah proliferasi dan aktivasi makrofag (Baratawidjaya, 2012).

Perubahan volume kaki pada jam ke-48 menunjukkan penurunan volume kaki yang paling besar dibandingkan dengan volume kaki pada jam ke-24. Hal ini dimungkinkan bahwa antigen sudah hampir sepenuhnya dinetralkan dari dalam tubuh oleh sistem imun hewan uji. Selain itu efek IL-4 dan TGF- β yang bersifat fagositik yang mendorong penurunan volume kaki pada jam ke-48 menjadi lebih cepat. Berdasarkan teori reaksi hipersensitivitas tipe lambat (tipe IV), peningkatan volume kaki tidak terjadi selama 6-12 jam dan mencapai intensitas maksimal sesudah 24-72 jam (Bellanti, 1989). Peningkatan volume kaki yang lebih cepat kemungkinan karena telah terjadi reaksi hipersensitivitas tipe I atau reaksi arthus (tipe III) disebabkan pencetus awal dari hipersensitivitas tipe lambat yang sering diikuti oleh respon imun humoral, selain itu jumlah antigen yang lebih besar dapat merangsang pembentukan antibodi sedangkan dosis sensitisasi antigen yang lebih kecil biasanya lebih berhasil dalam pembentukan hipersensitivitas tipe lambat (Bellanti, 1989).

Hasil pengukuran rata-rata perubahan volume kaki pada waktu T-48 di analisis statistik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* yang dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran rata-rata perubahan volume kaki pada waktu T-48 di analisis statistik menggunakan uji analisis *Kruskal-Wallis*.

Kelompok	Nilai p
Na CMC 1% b/v	0,031
SDMD 10% v/v	
EEDP 0,4 g/kgBB	
EEDP 0,8 g/kgBB	
EEDP 1,2 g/kgBB	

Ket.: $p < 0,05$ Signifikan (berbeda nyata)
 $p > 0,05$ Tidak Signifikan (tidak berbeda nyata)

Hasil pengukuran rata-rata perubahan volume kaki pada waktu T-48 di analisis statistik menggunakan uji *Mann-Whitney* dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengukuran rata-rata perubahan volume kaki pada waktu T-48 di analisis statistik menggunakan uji analisis *Mann-Whitney*.

Kelompok perlakuan	Nilai p	Keterangan
Kelompok 1 – kelompok 2	0.043	Berbeda nyata
Kelompok 1 – kelompok 3	0.099	Tidak Berbeda nyata
Kelompok 1 – kelompok 4	0.068	Tidak Berbeda nyata
Kelompok 1 – kelompok 5	0.099	Tidak Berbeda nyata
Kelompok 2 – kelompok 3	0.043	Berbeda nyata
Kelompok 2 – kelompok 4	0.043	berbeda nyata
Kelompok 2 – kelompok 5	0.043	Berbeda nyata
Kelompok 3 – kelompok 4	0.456	Tidak Berbeda nyata
Kelompok 3 – kelompok 5	1.000	Tidak berbeda nyata
Kelompok 4 – kelompok 5	0.456	Tidak Berbeda nyata

Keterangan : Kelompok 1 diberikan larutan Na CMC 1% b/v , Kelompok 2 diberikan SDMD 10% v/v, kelompok 3, kelompok 4 dan kelompok 5 diberikan EEDP 0,4 g/kgBB, 0,8 g/kgBB, dan 1,2 g/kgBB; Nilai $p < 0,05$ Signifikan (berbeda nyata); Nilai $p > 0,05$ Tidak Signifikan (tidak berbeda nyata).

Data hasil pengukuran perubahan volume kaki pada T-48 kemudian di analisis dengan menggunakan uji analisis *Kruskal-Wallis* yang menunjukkan bahwa perubahan volume kaki untuk kelompok ekstrak daun permot (*Passiflora foetida* L.) dosis 0,4 g/kgBB, 0,8 g/kgBB, dan 1,2 g/kgBB menunjukkan hasil berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol negatif yaitu kelompok SDMD 10% v/v. Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan secara bermakna antara setiap kelompok perlakuan, sehingga dilanjutkan dengan uji analisis *Mann-Whitney* yang dapat dilihat pada tabel 3.

Berdasarkan hasil uji lanjutan statistik uji analisis *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa kelompok normal terhadap kelompok kontrol negatif SDMD menunjukkan hasil berbeda nyata ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif SDMD tidak mengalami

peningkatan sistem imun. Untuk kelompok kontrol negatif SDMD terhadap kelompok ekstrak daun permot dosis 0,4 g/kgBB, 0,8 g/kgBB, dan 1,2 g/kgBB menunjukkan hasil berbeda nyata ($p < 0,05$). Hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun permo dosis 0,4 g/kgBB, 0,8 g/kgBB, dan 1,2 g/kgBB dapat memodulasi sistem imun hewan uji. Sedangkan antara masing-masing kelompok ekstrak, menunjukkan hasil tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa secara statistik tidak ada perbedaan yang bermakna antara masing-masing dosis ekstrak. Tapi jika dilihat dari grafik masing-masing kelompok ekstrak bahwa kelompok yang memiliki penurunan volume kaki yang paling besar yaitu pada kelompok EEDP 0,4 g/kgBB, maka kelompok EEDP 0,4 g/kgBB merupakan dosis yang lebih efektif. Peningkatan dosis tidak disertai dengan efek respon imun, hal ini dapat dimungkinkan karena reseptor limfosit T telah diduduki oleh senyawa aktif dalam ekstrak. Sehingga dosis ekstrak yang terlalu besar memungkinkan banyaknya senyawa aktif yang bebas dan tidak berikatan dengan reseptor, dimana dapat berpotensi mengganggu senyawa yang telah terikat dengan reseptor karena ikatan obat reseptor merupakan ikatan yang lemah sehingga mudah digeser akibatnya efek imun yang dihasilkan tidak maksimal (Rahma A., 2011). Aktivitas antioksidan daun permot yang bersifat imunomodulator diduga dari kandungan senyawa fenolik. Mekanisme fenolik sebagai imunomodulator yaitu dengan meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Sel CD4+ akan mempengaruhi proliferasi limfosit kemudian menyebabkan sel Th-1 teraktivasi. Sel Th-1 yang teraktivasi akan mempengaruhi IFN- γ yang dapat mengaktifkan makrofag yang ditandai dengan meningkatnya aktivitas fagositosis secara cepat dan lebih efisien dalam membunuh antigen (Patroni, 2003).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data statistik, maka dapat disimpulkan bahwa Ekstrak etanol daun permot (*Passiflora foetida* L.) dapat memberikan efek sebagai imunomodulator. Ekstrak etanol daun permot (*Passiflora foetida* L.) dosis 0,4 g/kgBB, 0,8 g/kgBB, dan 1,2 g/kgBB efektif sebagai imunomodulator meskipun secara statistik dosis 0,4 g/kgBB terhadap dosis 0,8 g/kgBB dan 1,2 g/kgBB menunjukkan hasil tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) sebagai imunostimulan.

REFERENSI

- Bellanti, A., 1985. *Imunologi III*, Gajah Mada University Press, Jakarta.
- Bratawidjaja, K.G. 2004. *Imunologi Dasar*, edisi VI. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta
- Depkes RI. 2010. *Farmakope Herbal*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta
- Echeverri F, Arango V, Quinones W, Torres F, Escobar G, Rosero Y, Archbold R. 2001. *Passifloricins, polyketides alpha-pyrone from Passiflora foetida resin*. *Phytochemistry* 56: 881-885.
- Faradilla, M., 2013, *Efek Imunomodulator Polisakarida Rimpang Temu Putih [Curcuma zedoaria (Chrtetm.) Roscoe]*, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12:273-278
- Kusmardi, Shirly, K., dan Enif, E.T. (2007). *Efek Imunomodulator Ekstrak Daun Ketepeng Cina (Cassia alata. L) Terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Makrofag*. *Makara Kesehatan*. Vol 11. No 2. Hal. 50-51.
- Manggau. M.A, Lantapi, N.C, & Alam. A. 2011. *Uji Efek Buah Mengkudu (Morinda citrifolia Linn.) Terhadap Aktivitas Immunoglobulin M (IgM) dan Immunoglobulin G (IgG) pada mencit (Mus Musculus)*. *Majalah Farmasi dan Farmakologi* Vol. 15 No.2 Hal. 99-104. Universitas Hasanuddin : Makassar.
- Massimino SP, Daristotle L, Ceddia MA, HayekMG. 2001. *The Influence of Diet on the Puppy's Developing Immune System*. Lewisburg, Ohio: Research and Development Division the Lams Co.

Patroni, R., Yuniarti, Afrizal, 2003. *Pengaruh pemberian ekstrak etanol umbi bidara upas (Merremia mammosa) terhadap fagositosis makrofag dan produksi NO makrofag studi eksperimental Infeksi Salmonella Typhimurium pada mencit Balb/C*. Universitas Diponegoro. Semarang.

Rahma, A., 2011. *Uji Aktifitas Immunostimulan Ekstrak Etanol Umbi Sarang Semut (Myrmecodia archboldiana Merr. & L.M Perry) Pad Tikus Putih Jantan*. Universitas Indonesia : Jakarta.

Silalahi J. 2002. *Anticancer and Health Protective Properties of Citrus Fruit components*. *Asia Pasific J Clin Nutr* 11(1):79-84.

Subowo, 2009, *Imunobiologi*, Edisi II, 12-13, 153, Sagung Seto, Jakarta.