Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy)

ISSN: 1693-8666

available at <http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF>

**Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Kulit Batang dan Buah Attarasa *(Litsea cubeba* (lour.) pers.*)* Terhadap Klirens Karbon Mencit *(Mus musculus)***

**The Immunomodulatory Activity of Ethanol Extract of Attarasa Bark and Fruit (*Litsea cubeba* (lour.) pers.) Toward Carbon Clearance of Mice (*Mus musculus)***

##### Vivi Asfianti1\*, Alfi Sapitri2, Eva Diansari Marbun3

*1,2,3Fakultas Farmasi dan Ilmu Kesehatan, Universitas Sari Mutiara Indonesia, Jalan Kapten Muslim No.79 Medan*

\**Corresponding author*: vivi.asfianti@yahoo.com

# Abstract

**Background:** Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) is a potential indonesian medicinal plant that is used as a cold remedy, head ulcers, antimicrobials, antioxidants, and anticancer drugs.

**Objective:** This study aimed to determine the immunomodulatory effect of ethanol extract of attarasa bark and fruit (EEKBA and EEBA) against phagocytosis activity in male mice by using carbon clearance method.

**Method:** This research is experimental method, where the treatment was divided into 6 groups of 4 mice each. Extract was given orally for 7 days in male mice at the dose of 100 mg/kg BW, 200 mg/kg BW, and 400 mg/kg BW, imboost® suspension at the dose of 32.5 mg/kg BW as positive control, and CMC-Na 1 % suspension as negative control and normal.. On the 8th day, 0.1 ml carbon suspension was injected intravenously in tail. Blood samples were collected at 5, 10, 15, and 20 minutes after injection of carbon suspension to find out the carbon absorbance in the blood that was measured by spectrophotometry UV-Visible. Calculated carbon elimination speed, phagocytic index, and the stimulation index.

**Result:** EEKBA and EEBA AF dose of 400 mg/kg BW has higher carbon elimination rate compared to EEKBA and EEBA dose of 100 and 200 mg/kg BW. Phagocytic index EEKBA and EEBA dose of 100, 200, dan 400 mg/kg BW were 3,429;4.289, 3,501; 4.375 and 3,925; 4.732. Stimulation index EEKBA and EEBA dose of 100, 200, and 400 mg/kg BW were 1,00; 1,20, 1,02; 1,23, and 1,13; 1,33. Based on the results of statistical test, EEKBA and EEBA administration at the dose of 100, 200, and 400 mg/kg BW can increase phagocytosis activity of the male mice and significantly different with CMC-Na 1% (p < 0.05). Phagocytosis activity was best shown at EEKBA and EEBA dose 400 mg/kg BW was not significantly different with Imboost® (p > 0.05).

**Conclusion:** EEKBA and EEBA have immunomodulatory effect to increase phagocytosis activity of mice.

**Keywords:** immunomodulatory, *Litsea cubeba*, carbon clearance, phagocytosis activity

# Intisari

**Latar belakang:** Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) merupakan tumbuhan obat potensial Indonesia yang digunakan sebagai obat flu, borok dikepala, antimikroba, antioksidan dan antikanker.

**Tujuan:** Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat efek imunomodulator Ekstrak Etanol Kulit Batang dan Buah Attarasa (EEKBA and EEBA) terhadap aktivitas fagositosis pada mencit jantan dengan menggunakan metode carbon clearance.

**Metode:** Metode penelitian bersifat eksperimental, perlakuan dibagi 6 kelompok masing-masing dengan 4 ekor mencit jantan. Ekstrak diberikan per oral selama 7 hari pada mencit jantan dengan dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB, suspensi imboost® dengan dosis 32,5 mg/kg BB sebagai kontrol positif, suspensi CMC-Na 1% sebagai kontrol negatif, dan kelompok normal. Pada hari ke-8 disuntikkan suspensi karbon 0,1 ml secara intravena di ekor mencit. Sampel darah dikumpulkan pada menit ke-5, 10, 15, dan 20 setelah injeksi suspensi karbon untuk mengetahui absorbansi karbon dalam darah yang diukur menggunakan spektrofotometri UV-Visible. Dihitung kecepatan eliminasi karbon, indeks fagositosis, dan indeks stimulasi

**Hasil: :** EEKBA and EEBA dosis 400 mg/kg BB memiliki kecepatan eliminasi karbon yang paling tinggi dibandingkan dengan EEAB dan EEAF 100 dan 200 mg/kg BB. Indeks fagositosis EEKBA and EEBA dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB yaitu 3,429;4.289, 3,501; 4.375 dan 3,925; 4.732. Indeks stimulasi EEKBA and EEBA dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB yaitu 1,00; 1,20, 1,02; 1,23, dan 1,13; 1,33. Berdasarkan hasil uji statistik, pemberian EEKBA and EEBA pada dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB dapat meningkatkan aktivitas fagositosis pada mencit jantan dan terdapat perbedaan yang signifikan dengan CMC-Na 1% dan kelompok normal (p<0,05). Aktivitas fagositosis yang paling baik yaitu pada EEKBA and EEBA dosis 400 mg/kg BB dengan perbedaan yang tidak signifikan terhadap Imboost® (p>0,05).

**Kesimpulan:** EEKBA and EEBA mempunyai efek imunomodulator dengan meningkatkan aktivitas fagositosis pada mencit jantan

**Kata kunci:** imunomodulator, *Litsea cubeba*, carbon clearance, aktivitas fagositosis.

# Pendahuluan

Tubuh manusia telah dilengkapi dengan sistem pertahanan yang sangat kompleks untuk menjaganya agar tetap sehat, yang dikenal dengan istilah imun. Imunitas dapat didefinisikan sebagai pertahanan terhadap penyakit, utamanya penyakit yang disebabkan karena infeksi. Sementara itu, sistem imun adalah gabungan antara sel, jaringan, dan molekul yang memerantai pertahanan terhadap infeksi (Sasmito, 2017 ).

Imunomodulator menjadi sangat populer di ranah industri obat bahan alam ketika masyarakat menyadari betapa pentingnya peran sistem imun dalam memelihara kesehatan, mencegah, dan pemulihan terhadap suatu penyakit (Sasmito, 2017). Penggunaan imunomodulator dalam terapi kadang kala mengalami hambatan. Diantara hambatan yang sering muncul adalah mahalnya imunomodulator yang tersedia di pasar obat dalam bentuk paten, yang mayoritas diimpor dari luar negeri. Dalam keadaan demikian, sangatlah perlu dipertimbangkan untuk memperoleh imunomodulator dari bahan alam agar faktor harga dapat ditekan (Rahman, H dkk, 2016 ).

Tanaman attarasa adalah penghasil minyak atsiri yang bernilai ekonomis tinggi. Minyak atsiri attarasa dimanfaatkan sebagai bahan baku untuk kosmetika, sabun, minyak wangi, aromatheraphy dan obat-obatan. Namun kandungan minyak atsiri yang terbanyak terdapat pada kulit batang dibandingkan buahnya. Kulit batang attarasa mengandung saponin, flavonoid dan tannin ( Kurniaty, R dkk, 2014). Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang diduga berpotensi sebagai imunomodulator. Adanya efek imunomodulator diduga juga karena aktivitas antioksidan yang tinggi dari ekstrak etanol kulit batang dan buah attarasa (Azizah, M dkk, 2017).

Metode bersihan karbon (*Carbon Clearance*) merupakan pengukuran secara spektrofotometri laju eliminasi partikel karbon dari darah hewan. Ini merupakan ukuran aktivitas fagositosis (Linsentia, N, 2011).

# Metode

* 1. ***Bahan dan alat***

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kulit batang dan buah attarasa, etanol p.a (Merck), akuades *,*tinta cina merk pelican B-17, CMC-Na, tablet imboost® (Soho), natrium sitrat 1%, asam asetat 1%, larutan NaCl 0,9%.

***2.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Batang dan buah Attarasa***

Pembuatan ekstrak dilakukan secara maserasi, masukkan 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok ke dalam sebuah bejana, tuangi dengan 75 bagian cairan penyari, tutup, biarkan selama 5 hari terlindungi dari cahaya sambil sering diaduk, serkai, peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Pindahkan kedalam bejana tertutup, biarkan ditempat sejuk, terlindungi dari cahaya, selama 2 hari ( Ditjen POM, 2000).

* 1. ***Pembuatan suspensi karbon***

Pembuatan suspensi karbon dilakukan dengan cara disuspensikan 1,6 ml tinta cina pelikan B-17 ke dalam 8,4 ml suspensi CMC Na 1% dalam larutan fisiologis NaCl 0,9% (Faradilla dan Maria, 2014).

**2.4 *Pembuatan suspensi ekstrak etanol kulit batang dan buah attarasa***

Ditimbang 1 gram ekstrak etanol kulit batang attarasa. Dimasukkan ke dalam lumpang, kemudian tuang sedikit demi sedikit suspensi CMC Na 1% sambil digerus hingga homogen, setelah homogen dituangkan kedalam labu tentukur 100 ml dan dicukupkan dengan suspensi CMC Na 1% hingga garis tanda. Diperoleh konsenrasi ekstrak etanol kulit batang attarasa 1% (Tambusai, 2018 ).

**2.5** ***Pengujian Efek Imunomodulator Metode Klirens Karbon***

Uji efek imunomodulator ekstak etanol kulit batang dan buah Attarasa ditentukan menggunakan metode bersihan karbon dengan mengukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sejumlah 36 ekor mencit dibagi menjadi IX kelompok dosis, kelompok I sebagai kontrol normal, kelompok II sebagai kontrol negatif, kelompok III sebagai kelompok positif dan kelompok IV-IX sebagai kelompok uji. Tiap kelompok terdiri dari 4 ekor mencit jantan. Hewan dikelompokkan sebagai berikut:

Kelompok I : Kontrol Normal ( tidak diberi apa-apa )

Kelompok II : diberi sediaan suspensi CMC-Na 1%

Kelompok III : diberi sediaan Imboost® dengan dosis 32,5 mg/kg bb

Kelompok IV : diberi sediaan EEKBA dengan dosis 100 mg/kg bb

Kelompok V : diberi sediaan EEKBA dengan dosis 200 mg/kg bb

Kelompok VI : diberi sediaan EEKBA dengan dosis 400 mg/kg bb

Kelompok VII : diberi sediaan EEBA dengan dosis 100 mg/kg bb

Kelompok VIII : diberi sediaan EEBA dengan dosis 200 mg/kg bb

Kelompok IX : diberi sediaan EEBA dengan dosis 400 mg/kg bb

Tiap kelompok diberikan ekstrak uji secara oral satu kali sehari selama 7 hari berturut-turut. Pada hari ke-8 setelah 7 hari pemberian suspensi sampel pada masing-masing kelompok, ujung ekor mencit dipotong. Dilakukan pengambilan darah dan dimasukkan ke dalam tube yang telah berisi Na-sitrat, kemudian darah diambil 10 µl dan ditambahkan 4 ml asam asetat 1% untuk meliliskan sel darah merah, darah pertama digunakan sebagai blanko (menit ke 0), kemudian 0,1 suspensi karbon disuntikkan secara intravena melalui pembuluh darah ekor, dan pada menit ke-5, 10, 15 dan 20 setelah penyuntikan karbon dilakukan pengambilan darah, ditampung ke dalam tube yang telah berisi Na-Sitrat, kemudian darah diambil sebanyak 10 µl, masing-masing ditambahkan 4 ml Asam Asetat 1% untuk melisiskan sel darah merah, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer 632nm. Setelah 12 jam diambil darahnya, kemudian hati dan limfa dicatat beratnya (Aldi, dkk., 2013).

Setelah pengambilan darah pada ujung ekor mencit tersebut dihitung konstanta kecepatan eliminasi karbon (K), indekss fagositosi (α) dan indeks stimulasi dengan menggunakan rumus:

Konstanta kecepatan eliminasi karbon (K) =

Indeks Fagositosis =

indeks stimulasi =

Dimana:

OD5 adalah absorbansi pada menit ke 5

OD20 adalah absorbansi pada menit ke 20

T1 adalah waktu pertama pengambilan darah

T2 adalah waktu terakhir pengambilan darah

Indeks fagositosis dan indeks stimulasi dari tiap kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol (Kala et al., 2015)

# Hasil dan pembahasaan

* 1. ***Hasil ekstraksi kulit batang dan buah Attarasa menggunakan pelarut Etanol p.a dengan cara maserasi***

Sebelum proses ekstraksi dilakukan determinasi tanaman di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta – Bogor KM.46 Cibinong 16911. Hasil determinasi menyatakan spesies yang digunakan adalah *Litsea cubeba* (Lour) Pers. Hasil penyarian 800g serbuk simplisia kulit batang attarasa dan 1000g serbuk simplisia buah attarasa dengan pelarut etanol p.a diperoleh masing-masing ekstrak kental sebanyak 140g dan 150g.

***3.2 Hasil Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Kulit Batang dan Buah Attarasa***

***3.2.1 Laju Eliminasi Karbon***

Pada penelitian ini dilakukan pengujian respon imun non spesifik dengan menggunakan metode bersihan karbom. Uji ini merupakan respon non spesifik unuk mengetahui aktivitas fagositosis sel makrofag terhadap karbon sebagai zat asing (Shukla, dkk., 2009). Karbon akan berkurang jumlahnya dalam darah seiring pertambahan waktu, karena adanya peristiwa fagositosis oleh sel-sel leukosit terutama neutrophil, monosit, dan makrofag. Laju eliminasi karbon merupakan suatu metode yang digunakan utuk mengukur aktivitas fagositosis pada mencit.

Hasil laju eliminasi karbon dalam darah (EEBA dan EEFA) ditunjukkan pada Gambar 1.

(a)

(b)

Gambar 1. Laju Eliminasi Karbon a. EEKBA b. EEBA

Pada gambar 1 dapat dilihat nilai absorban panjang gelombang karbon dalam darah menurun tiap rentang waktu, berarti setiap konsentrasi ekstrak uji dapat memberikan efek imunostimulan. Penggunaan variasi konsentrasi ekstrak uji pada perlakuan ini untuk mengetahui hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak uji dengan aktivitas penurunan karbon dalam darah. Pada gambar 1 juga dapat dilihat adanya penurunan nilai absorban pada semua kelompok sediaan uji dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Penurunan nilai absorban terbesar terdapat pada dosis 400mg/kgbb, semakin menurunnya nilai absorban berarti konsentrasi karbon yang tinggal dalam darah mencit semakin sedikit. Hal ini memperlihatkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas fagositosis pada masing-masing kelompok sediaan ekstrak uji. Penurunan nilai absorban terbesar terdapat pada dosis 400 mg/kg bb, semakin menurunnya nilai absorban berarti konsentrasi karbon yang tinggal dalam darah mencit semakin sedikit. Hal ini memperlihatkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas fagositosis pada masing-masing kelompok sediaan ekstrak uji.

Fagositosis adalah suatu mekanisme pertahanan yang dilakukan oleh sel fagosit, sel fagosit ini terdiri dari 2 jenis, yaitu fagosit mononuclear dan polimorfonuklear. Fagosit mononuklear contohnya monosit (didarah) jika berpindah ke jaringan menjadi makrofag. Fagosit polimorfonuklear adalah granulosit yaitu netrofil, eusinofil, basophil dan sel mast (dijaringan). Adapun proses fagositosis dimana mikroorganisme/partikel asing dikenali oleh sel fagosit, maka sel fagosit akan bergerak menuju partikel tersebut akan melekat dengan reseptor pada membrane sel fagosit, membrane sel fagosit tersebut akan menyelubungi seluruh permukaan partikel asing dan memasukkan nya ke dalam sitoplasma yang mirip seperti vakuola disebut fagosom. Fagosom berikatan dengan lisosom yang berisi enzim penghancur seperti acid hydrolase dan peroksidase bergabung dengan fagosom membentuk fagolisosom. Sistem limfoid berfungsi untuk melindungi tubuh dari kerusakan akibat zat asing. Sel sel pada sistem ini dikenal dengan imunokompeten yaitu sel yang mampu membedakan sel tubuh dengan zat asing dan menyelenggarakan inaktivasi atau perusakan zat asing. Tugas limpa sangat penting, seperti berkontribusi pada produksi sel, fagositosis, dan pembangunan kekebalan. Peningkatan bobot hati dan limpa dapat mengindikasikan adanya peningkatan poliferasi sel-sel imun yang terdapat di dalam organ-organ tersebut (Kim, dkk., 2011).

***3.2.2 Indeks Fagositosis***

Uji aktivitas fagositosis menggunakan metode carbon clearance merupakan gambaran sistem imun non spesifik pada proses fagositosis terhadap partikel asing didalam darah. Metode carbon clearance digunakan untuk mengukur aktivitas sel-sel fagosit untuk membunuh oragnisme patogen yang masuk kedalam tubuh. Fagositosis banyak digunakan sebagai parameter imunologi untuk mengevaluasi fungsi kekebalan tubuh. Penilaian kemampuan atau aktivitas fagositosis dalam mengeliminasi partikel karbon dinaytakan sebagai indeks fagositosis (Shukla, et al., 2009). Peningkatan indeks bersihan karbon menunjukkan perbaikan fungsi fagositik dari makrofag mononuclear dan imunitas non spesifik.Indeks fagositis setelah pemberian ekstrak etanol kulit batang dan buah attarasa ditunjukkan pada gambar 2.

(a)

(b)

Gambar 2. Indeks fagositis a. EEKBA b. EEBA

Pada gambar 2 dapat dilihat Indeks fagositosis EEKBA and EEBA dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB yaitu 3,429 dan 4,289; 3,501 dan 4,375; 3,925 dan 4,732. Indeks fagositosis ekstrak dosis 100, 200, dan 400 mg/kg bb menunjukkan bahwa adanya hubungan peningkatan dosis dengan nilai indeks fagositosis, yaitu semakin besar peningkatan dosis maka nilai indeks fagositik semakin tinggi.Semakin meningkatnya indeks fagositik pada uji bersihan karbon menunjukkan adanya peningkatan aktivitas fagositosis dari makrofag dan peningkatan imunitas non spesifik. Keefektifan sel fagosit ditandai dengan peningkatan antibodi dan C3b komplemen, yang dimulai dari kecepatan pembersihan zat asing dari dalam darah (Ghaisas, et al., 2009).

***3.2.3 Indeks Stimulasi***

Indeks stimulasi merupakan hasil perbandingan antara kelompok uji dengan kelompok kontrol. Suatu zat bersifat imunostimulan jika indeks stimulasi lebih besar dari 1 dan bersifat imunosupresan jika indeks stimulasi lebih kecil dari 1. Indeks stimulasi setelah pemberian ekstrak etanol kulit batang dan buah attarasa ditunjukan pada Gambar 3.

(a)

(b)

Gambar 3. indeks stimulasi a.EEKBA b.EEBA

Pada gambar 3 dapat dilihat Indeks stimulasi EEKBA and EEBA dosis 100, 200, dan 400 Indeks stimulasi EEKBA and EEBA dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB yaitu 1,00 dan 1,20; 1,02 dan 1,23; 1,13 dan 1,33. Pemberian EEKBA and EEBA pada dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB dapat meningkatkan aktivitas fagositosis pada mencit jantan dan terdapat perbedaan yang signifikan dengan CMC-Na 1% dan kelompok normal (p<0,05). Indeks stimulasi ekstrak dosis 100, 200, dan 400 mg/kg bb menunjukkan bahwa adanya hubungan peningkatan dosis dengan nilai indeks stimulasi, yaitu semakin besar peningkatan dosis maka nilai indeks stimulan yang didapat semakin meningkat. Imunostimulator secara tak langsung berkhasiat mereaktivasi sistem imun yang rendah dengan meningkatkan produksi molekul perantara (*messenger molecules*), yaitu sitokin, yang fungsinya adalah sebagai mediasi dan mengatur sistem imun (Sasmito, 2017). Menurut Sasmito (2017) mengenai imonomodulator bahan alami bahwa senyawa flavonoid dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh hingga mampu menangkal serangan virus, bakteri atau zat asing lainnya, dengan cara meningkatkan aktivitas dari makrofag yang ditunjukkan dengan meningkatnya kemampuan fagositosis, aktivitas enzim lisosomal, serta memodulasi pelepasan nitric oxide oleh makrofag. Senyawa flavonoid dapat bekerja terhadap limfokin (Interferon γ) yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis .

Efek suatu bahan sangat erat kaitannya dengan senyawa kimia yang terkandung dalam bahan tersebut. Mekanisme imunostimulan pada buah attarasa kurang lebih sama seperti mekanisme pada tumbuhan yang mengandung senyawa ini seperti dijelaskan diatas, yaitu memiliki efek imunostimulasi pada monosit, makrofag, *natural killer cell,* dan *dendrit cell*dengan meningkatkan aktivitas IL-2, proliferasi dan aktivasi limfosit T. Proliferasi limfosit menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Kemudian sel Th1 yang teraktivasi akan mempengaruhi IFNˠ yang dapat mengaktifkan makrofag (Sasmito, 2017).

1. **Kesimpulan**

EEKBA dan EEBA mempunyai aktivitas imunomodulator yang bekerja dengan meningkatkan sistem imun (imunostimulan).

1. **Daftar Pustaka**

Aldi, Y., Nisya, O., dan Handayani. (2013). Uji Imunomodulator Beberapa Subrafraksi Ekstrak Etil Asetat Meniran Pada Mencit Jantan Dengan Metode Carbon Clearance. Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi Dan Klinik III

Azizah, M., Wiwik, W., Ema, R., S. (2017). Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Kulit Buah Nanas Terhadap Mencit Putih Jantan Dengan Metode Bersihan Karbon. Jurnal. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi. Palembang

Ditjen POM. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal. 10-11.

Faradilla, M., Maria, I, I. 2014. Efek Imunomodulator Polisakarida Rimpang Temu Putih (Curcuma Zeodoaria (christni) Roscoe). Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia

Ghaisas, M.M., Shaikh, S.A., dan Deshpande, A.D., 2009, Evaluation of the Immunomodulatory Activity of Ethanolic Extract of the Stem Bark of *Bauhinia variegata* Linn., *International Journal of Green Pharmacy*, 70- 74, Department of Pharmacology, Institute of Pharmaceutical Scienceand Research, India.

Kim, K. L., Shin, K, S., Jun, W. J., Hong, B. S., Shin. D.H dan Cho, H. Y, (2011). Effectts of Polysaccharides from Rhizomes of Curcuma on Macrhopag Funchions. Browser Biotecnology. 65 (II): Halaman 2377.

Kurniaty, R., Dida, S., Kurniawaty, P., P., Aam, A. 2014. Kilemo (Litsea Cubeba L Persoon). Bogor: Kementrian Kehutanan

Linsentia, N., A. 2011. Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Daun Kemangi Terhadap Mencit Jantan Dengan Metode Carbon Clearance Dan Neutrophilma adhesion. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.

Rahman, H., Yufri, A., dan Elda, M. 2016. Aktifitas Imunomodulator Dan Jumlah Sel Leukosit Dari Ekstrak Kulit BUah Naga Merah Pada Mencit Jantan. STIFARM. Padang.

Sasmito, E. (2017). *Imunomodulator Bahan Alami.* Yogyakarta: Rapha Publishing Hal 3,16

Shukla, S., Suresh, P.V., Pradeep, M, Jinu, J., dan Archana, M. (2009). Immunomodulatory Activities of the Ethanolic Extract of Caesalpinia bonducella Seeds. Journal of Ethnopharmacology: 125, Halaman 252-256

Tambusai, N., A. 2018. Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Daun Afrika Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Imun Pada Mencit Jantan Dengan Metode Karbon Klirens. Universitas Sumatera Utara. Medan