

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KELOPAK BUNGA
ROSELLA (*HIBISCUS SABDARIFFA LINN*) TERHADAP AKTIVITAS
FAGOSITOSIS MAKROFAG TIKUS (*SPRAGUE DAWLEY*)**

***EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF ROSELLA FLOWER PETALS
(HIBISCUS SABDARIFFA LINN) ON THE PHAGOCYTOSIS ACTIVITY
OF RAT MACROPHAGES (SPRAGUE DAWLEY)***

Juliyanty Akuba¹

¹Jurusan Farmasi, FOK UNG, Gorontalo, Indonesia

email: juliantyakuba@gmail.com

Abstrak

Imunitas merupakan perlindungan terhadap penyakit lebih spesifik terhadap perlindungan infeksi. Kebaruan penelitian ini karena meneliti pengaruh pemberian ekstrak etanol kelopak bunga rosella (*Hibiscus Sabdariffa Linn*) terhadap aktivitas fagositosis makrofag tikus (*Sprague Dawley*). Tujuan penelitian untuk mengetahui efek ekstrak etanol kelopak bunga rosella terhadap aktivitas fagositosis, sekresi Nitrit Oksida, sekresi Reactive Oxygen Intermediate, ekspresi IL-12 makrofag tikus yang diinduksi DMBA pada hari ke-7 dan hari ke-34. Tikus betina galur SD sebanyak 45 ekor dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor tikus, kelompok baseline, kelompok DMBA 15 mg/ tikus dosis tunggal melalui *intragastric* dan kelompok perlakuan yaitu diberi EEKBR 10, 50 dan 100 mg/kg BB. Induksi DMBA secara peroral dosis tunggal pada hari pertama penelitian dan EEKBR diberikan setiap hari selama penelitian. Diamati pemberian jangka pendek dan jangka panjang selama 6 hari dan 33 hari, pada hari ke-7 dan hari ke-34 dilakukan pembedahan. Uji aktivitas fagositosis dilakukan dengan uji latex. Sekresi NO dilakukan dengan metode *Griess assay*. Sekresi ROI dilakukan dengan metode NBT, dan Ekspresi IL-12 dilakukan dengan metode imunositokimia. Data dianalisis dengan Anova satu lengan, kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc* LSD dan Kurskal-Wallis, kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-whitney*. Hasil penelitian aktivitas fagositosis makrofag menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok DMBA dengan kelompok EEKBR dosis 10, 50 dan 100 mg/kg BB hari ke-7 dan ke-34. Pada pemeriksaan sekresi NO makrofag terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok DMBA dengan kelompok EEKBR dosis 100 mg/kg BB hari ke-7 dan dosis 10, 50 dan 100 mg/kg BB hari ke-34. Pada pemeriksaan sekresi ROI makrofag terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok DMBA dengan kelompok EEKBR dosis 10, 50 dan 100 mg/kg BB hari ke-7 dan ke-34. Kesimpulan EEKBR dapat meningkatkan aktivitas fagositosis, sekresi NO, sekresi ROI dan ekspresi IL-12 makrofag peritoneum tikus yang diinduksi DMBA.

Kata kunci: Aktivitas Fagositosis; DMBA; IL-12; Makrofag.

Abstract

Immunity is protection against disease, more specifically to the protection against infection. DMBA was reported to have immunosuppressive effect. The novelty in this study is the effect of giving ethanol extract of Rosella flower petals (Hibiscus Sabdariffa Linn) on the phagocytic activity of rat macrophages (Sprague Dawley). The objective of this study were to determine the effects of roselle (Hibiscus sabdariffa Linn.) calyx ethanolic extract on the phagocytic activity of macrophage on DMBA induced SD rat on 7 and 34 days. SD female rats by 45 strains were divided into 5 groups, each group consisting of 9 rats; baseline group, group DMBA 15 mg / rat single dose. Treatment group was given EEKBR 10, 50 and 100 mg / kg. The duration treatment of extract was 6 days and 33 days. DMBA were induced by oral administration single dose on the first day of treatment and EEKBR treatment daily the treatment. Phagocytic activity test was conducted using latex. Data were analyzed with one-way ANOVA, followed with LSD analyzed and Kruskal-wallis followed with Mann-whitney analyzed. The results showed that phagocytic activity macrophages showed significant differences between the groups with the DMBA and EEKBR dose 10, 50 and 100 mg/kgBW for 7 and 34 days. Total flavonoid anthocyanin levels obtained 2,465% and total polyphenol content obtained 6,03 g GAE/100 g extract.

Keywords: Phagocytic activity; DMBA; IL-2; Macrophage.

Received: January 19th, 2022; 1st Revised March 30th, 2022; Accepted for
Publication : May 12th, 2022

© 2022 Juliyanty Akuba
Under the license CC BY-SA 4.0

1. PENDAHULUAN

Imunitas merupakan suatu perlindungan terhadap penyakit, lebih spesifik terhadap perlindungan terhadap infeksi. Infeksi yang umumnya terjadi pada orang normal singkat dan jarang yang menyebabkan kerusakan permanen. Hal ini disebabkan tubuh memiliki sistem kekebalan tubuh (1)(2). Salah satu upaya tubuh untuk mempertahankan diri terhadap masuknya antigen, dengan cara menghancurkan bakteri secara nonspesifik dengan proses fagositosis. Selain fagositosis, manifestasi respon imun nonspesifik adalah reaksi inflamasi. Sel-sel sistem imun tersebar di seluruh tubuh, tetapi bila terjadi infeksi di satu tempat perlu upaya memusatkan sel-sel sistem imun dan produk-produk seperti Nitrit oxide dan Reactive oxygen intermediate yang dihasilkannya kelokasi infeksi. Dalam mengenali antigen secara spesifik, ada 3 macam molekul pengikat antigen yang terlibat, yaitu reseptor antigen pada permukaan sel B, reseptor antigen pada sel T dan molekul major histocompatibility complex (MHC) (1)(3).

DMBA merupakan zat kimia yang termasuk dalam polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) yang dikenal sebagai mutagenik, teratogenik, karsinogenik, sitotoksik dan immunosupresif (4). DMBA melibatkan enzim sitokrom P450 yang dapat merusak DNA sehingga terbentuk epoksida dihidrodiol dan kation radikal (Hamid dkk, 2009). Radikal aktif metabolit DMBA dibuktikan dapat mengakibatkan aktivasi iNOS yang berujung pada peningkatan sekresi NO (5). Sekresi NO yang berlebihan oleh makrofag pada jaringan atau organism yang

terpapar DMBA disamping menimbulkan stress oksidatif juga dapat bersifat immunosupresif (Bogdan dkk, 2011). Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) mengandung senyawa fenolik yaitu antosianin pada kelopak bunganya (Ruangsari dkk, 2008) gossypetin, antosianin, vitamin C, vitamin D, vitamin B (Kustiawaty, 2008). Mengingat pentingnya fungsi senyawa fenolik sebagai antioksidan untuk gangguan sistem imun tubuh (6)(7).

2. METODE

Pembuatan Ekstrak Kelopak Bunga Rosella

Sebanyak 1500 gram serbuk kelopak bunga rosella diekstraksi dengan pelarut etanol 70 % 6000 ml (1:4) menggunakan metode maserasi dengan pengadukan selama kurang lebih 3 jam, kemudian didiamkan sampai 24 jam. Maserat diuapkan dengan vacum rotary evaporator dengan suhu 60⁰C dan dipekatkan diatas waterbath dengan suhu 60-70⁰C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol kelopak bunga rosella ditimbang dan dihitung rendemennya.

Penetapan Kadar Fenolik Total

Sejumlah 50 mg Asam Galat ditambah dengan 0,5 mL etanol *p.a.*, ditambah aquadest sampai 100,0 mL. Pembuatan Larutan Na₂CO₃ 7,5. 7,5 gram Na₂CO₃ ditambah dengan 80 ml air suling, kemudian didihkan sampai suhu 100⁰C sampai serbuk Na₂CO₃ larut sempurna. Larutan disaring dan diencerkan dengan aquadest sampai 100,0 mL. Sebanyak 300 µL larutan Asam Galat konsentrasi 15 µg/mL ditambah 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteau (1:10), gojog dan diamkan selama 3 menit. Larutan ditambah 1,2 mL Na₂CO₃ 7,5%, gojog, diamkan pada suhu kamar, *range*

operating time (10 menit). Absorbansi diukur pada panjang gelombang 600-850 nm. Sebanyak 300 µL larutan Asam Galat konsentrasi 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 µg/mL ditambah 1,5 mL reagen Folin-ciocalteau (1:10), gojog dan diamkan selama 3 menit. Larutan ditambah 1,2 mL Na₂CO₃ 7,5%, gojog, diamkan pada suhu kamar, *range operating time* (10 menit). Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum, dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi. Sebanyak 25,0 mg ekstrak ditambah dengan etanol 70% sampai dengan volume 25,0 mL (1:1). Dipipet 300 µL larutan ekstrak sampel ditambah 1,5 mL reagen Folin-ciocalteau (1:10), gojog dan diamkan selama 3 menit. Larutan ditambah 1,2 mL Na₂CO₃ 7,5%, gojog, diamkan pada suhu kamar, *range operating time* (10 menit). Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum, dibuat 3 kali pengulangan.

Pembuatan larutan DMBA

Senyawa DMBA dengan konsentrasi 15 mg/ tikus dibuat dengan cara 15 mg DMBA dilarutkan dalam 1 ml minyak jagung, seperti telah dilaporkan sebelumnya (Meiyanto *et al.*, 2007). Larutan homogen DMBA selanjutnya diberikan secara per oral pada masing-masing kelompok perlakuan dengan menggunakan sonde. Volume pemberian, yaitu 1 ml tidak melebihi secara maksimal yang diperbolehkan jika diberikan per oral pada hewan uji (volume maksimal untuk tikus= 5 ml). Larutan DMBA ini diberikan dengan dosis DMBA 15 mg/ tikus melalui intragastric secara *single dose* diberikan pada hewan uji

Hewan Uji dan Penyuntikkan

Tikus betina galur SD sebanyak 45 ekor dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor tikus. Seluruh hewan uji diaklimatisasi selama 1 minggu, kemudian ditimbang berat badannya. Pengukuran berat badan dilakukan di awal sebelum perlakuan, kemudian ditimbang kembali setiap minggunya, dan di akhir perlakuan. Kelompok I adalah kelompok *base line* yaitu tikus hanya diberi makan dan minum saja. Kelompok II adalah kelompok dengan pemberian DMBA dalam minyak jagung dengan dosis 15 mg/ tikus melalui *intragastric* secara *single dose*. Kelompok III, IV, dan V adalah kelompok dengan pemberian DMBA dalam minyak jagung dengan dosis 15 mg/ tikus melalui *intragastric* secara *single dose*, serta diberikan ekstrak etanol kelopak bunga rosela dengan variasi dosis yaitu masing-masing 10 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB, dan 100 mg/Kg BB per oral diberikan setiap hari selama 6 hari (untuk 4 ekor) dan selama 33 hari (untuk 5 ekor), terhitung sejak diinduksi DMBA. Tikus ditimbang seminggu sekali untuk mengetahui perkembangan berat badan. Pada hari ke 7 setelah perlakuan, empat ekor tikus pada masing-masing kelompok, dilakukan uji aktivitas fagositosis makrofag tikus putih galur SD. Demikian pula pada hari ke 34 setelah perlakuan, enam ekor tikus pada masing-masing kelompok dilakukan uji aktivitas fagositosis.

Isolasi Makrofag

Isolasi makrofag dilakukan dengan tikus dibunuh dengan narkose kloroform. Tikus diletakkan dalam posisi terlentang, kulit bagian perut dibuka dan dibersihkan selubung

peritoneumnya dengan alkohol 70%. Disuntikkan 5 ml RPMI dingin ke dalam rongga peritoneumnya dan ditunggu selama 3 menit sambil digoyang-goyangkan secara perlahan. Cairan peritoneum dikeluarkan dari rongga peritoneum dengan cara menekan rongga dalam dengan 2 jari, cairan diaspirasi dengan spuit injeksi, dipilih pada bagian yang tidak berlemak dan jauh dari usus. Aspirat disentrifuge pada 1200 rpm, 4⁰C selama 10 menit. 100 µl makrofag yang diperoleh diresuspensikan dengan medium komplit sebanyak 900 µl. Jumlah sel dihitung dengan haemocytometer, suspensi sel ditumbuhkan dalam mikrokultur 24 sumuran yang telah diberi coverslip bulat inkubasi 24 jam.

Uji Aktivitas Fagositosis

Setelah diinkubasi 24 jam buang media, setiap sumuran ditambahkan sampel sebanyak 200 mikroliter (2×10^5 sel). Sel diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5%, 37⁰C selama 30 menit, lalu masing-masing sumuran dicuci dengan 250 mikroliter medium komplit sebanyak 3 kali, lalu diinkubasi selama 2 jam. Sel kemudian dicuci dengan RPMI 2 kali dan kemudian ditambahkan 1 ml medium komplit, lalu diinkubasi selama 24 jam. Uji fagositosis dilakukan dengan menambahkan 200 µl latex dalam PBS dengan diameter 3 µl. Partikel latex disuspensikan dalam PBS dengan kepadatan $2,5 \times 10^6$ /sumuran. Diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5%, 37⁰C selama 1 jam. Sel dicuci dengan PBS 3 kali sebanyak 1000 µl/sumuran, dikeringkan pada suhu kamar dan difiksasi dengan metanol absolut sebanyak 300 µl/sumuran selama 30 detik. Setelah kering ditambahkan dengan Giemsa 20% masing-

masing 1000 µl diamkan pada suhu kamar selama 20 menit. Buang sisa giemsa dan cuci dengan aquades steril. Keringkan pada suhu ruangan, ambil coverslip dari tiap-tiap sumuran dan amati. Persentase sel makrofag yang memfagositosis partikel latex yang difagositosis dihitung dan sekitar 100 sel yang diperiksa dengan mikroskop cahaya pembesaran 400 x.

Analisis Data

Uji One Sample Kolmogorof-Smirnov

Dilakukan untuk mengetahui semua varian/kelompok terdistribusi normal atau tidak. Data dikatakan terdistribusi normal apabila masing-masing hasil uji mempunyai nilai signifikansi lebih dari 0,05.

Uji Homogenitas Varian

Dilakukan untuk mengetahui semua varian/kelompok terdistribusi homogen atau tidak. Jika data yang terdistribusi normal dan mempunyai varian yang homogen maka selanjutnya data-data tersebut dianalisis dengan metode statistik parametrik dengan analisis varian satu jalan (ANOVA). Jika data tersebut tidak terdistribusi normal atau varian tidak homogen maka data-data tersebut dianalisis dengan menggunakan metode statistik non parametrik dengan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dengan taraf kepercayaan 95 %.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Kadar Fenolik

Sejumlah ekstrak etanol kelopak bunga rosella ditambah dengan tiga tetes pereaksi FeCl₃. Terjadi reaksi antara senyawa polifenol dengan ferri klorida (FeCl₃) membentuk kompleks berwarna hijau hingga biru. Sampel

menghasilkan warna hijau kebiruan yang menunjukkan bahwa EEKBR positif

mengandung senyawa polifenol. Hasil uji polifenol dapat dilihat pada Gambar 1.



A B

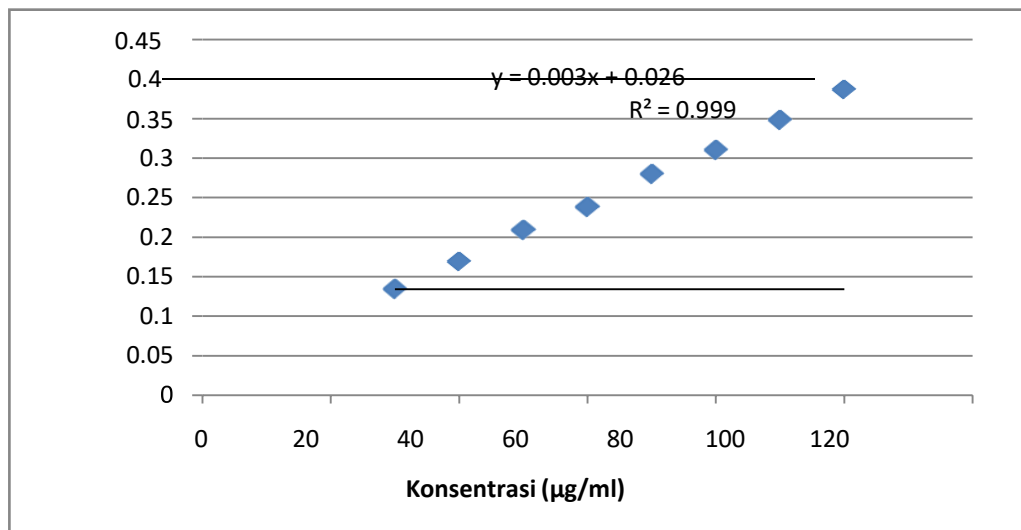
Gambar 1. Hasil uji polifenol dengan penambahan $FeCl_3$, (A) Ekstrak etanol kelopak bunga rosella yang diencerkan (B) Ekstrak etanol kelopak bunga rosella yang diencerkan dengan penambahan $FeCl_3$

Senyawa fenolik dilaporkan memiliki efek antioksidan dan mampu meningkatkan sistem imun tubuh, oleh sebab itu perlu dilakukan penetapan kadar fenolik total dalam kelopak bunga rosella(8)(9). Uji polifenol dilakukan untuk memastikan adanya senyawa polifenol dalam kelopak bunga rosella. Penetapan kadar polifenol dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu yang berisi campuran natrium tungstat, natrium molibdat, litium sulfat, asam klorida pekat, asam fosfat 85%, bromin dan air suling

(10)(11). Reagen Folin Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya. Prinsip dari metode Folin Ciocalteu adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 765 nm. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Hasil pengukuran ditunjukkan pada tabel 1 dan gambar 2.

Tabel I. Kurva baku larutan standar asam galat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
30	0,134
40	0,169
50	0,209
60	0,238
70	0,280
80	0,310
90	0,348
100	0,385



Gambar 2. Kurva baku penetapan kandungan fenolik total

Berdasarkan data diatas dibuat kurva hubungan antara konsentrasi larutan standar asam galat dengan absorbansi dan dicari persamaan regresi linier, diperoleh $y = 0,043 x + 0,0454$ dan $R^2 = 0,9991$, dimana $x =$

konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) dan $y =$ absorbansi. Hasil pengukuran kandungan fenolik total ekstrak etanol kelopak bunga rosella dapat dilihat pada Tabel II.

Tabel II. Hasil penetapan kandungan fenolik total ekstrak etanol kelopak bunga Rosella

Replikasi sampel	Absorbansi	X ($\mu\text{g/mL}$)	Kadar fenolik total (g GAE/100 g ekstrak)	$\bar{X} \pm \text{SD}$
1	0,326	63,7	6,16	$6,03 \pm 0,21$
2	0,328	64,26	6,15	
3	0,313	60,06	5,79	

Kandungan fenolik total rata-rata EEKBR yang diperoleh kadar sebesar 6,03 g GAE/100g ekstrak. Penelitaian yang dilakukan oleh (10) memperoleh kada fenolik total ekstrak metanol kelopak rosella merah adalah $1,568 \pm 0,031$ g GAE/100g ekstrak. Hasil perhitungan fenolik total ditunjukkan pada lampiran 2. Perbedaan perolehan kadar ini dapat terjadi karena faktor pelarut yang digunakan, pada penelitian yang dilakukan oleh (10) menggunakan pelarut metanol, sedangkan pada penelitian ini menggunakan etanol 70%. Warna merah pada kelopak

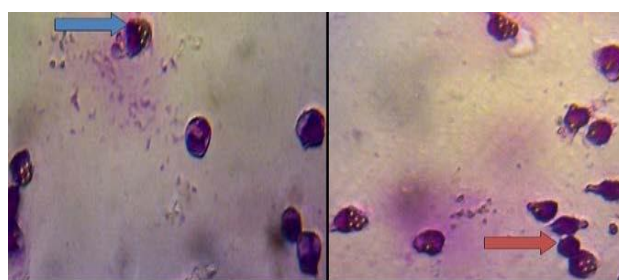
bunga rosella menunjukkan adanya senyawa antosianin yang termasuk dalam kelompok flavonoid dari senyawa polifenol dan merupakan glikosida dari turunan polihidroksi dan polimetoksi dari kation 2-fenibenzopirilium atau kation flavilium yang bersifat polar dan akan lebih banyak tersari dalam pelarut yang lebih polar (Brouillard, 1982 ; Kong dkk, 2003)

Aktifitas Fagositosis

Uji kemampuan fagositosis non spesifik dilakukan dengan menggunakan latex breads diameter 3 μm , aktivitas makrofag

dapat terpacu oleh adanya antigen berupa makromolekul maupun patogen. Lateks merupakan makromolekul yang dapat digunakan sebagai model untuk memacu aktivitas fagositosis makrofag (12)(13). Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40x untuk

mempermudah membedakan makrofag yang memfagositosis lateks dan tidak memfagositosis lateks. Seperti yang ditunjukkan pada gambar dibawah ini:

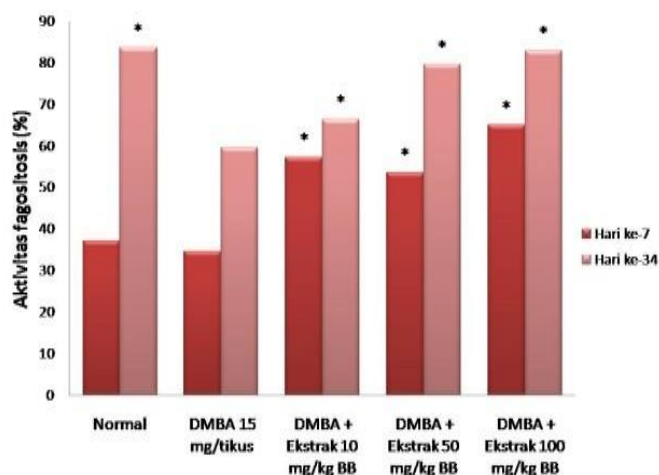


Keterangan:
→ : Makrofag memfagositosis lateks
→ : Makrofag tidak memfagositosis lateks

Gambar 3. Aktivitas fagositosis makrofag

Aktivitas fagositosis makrofag peritoneum tikus diamati dengan melihat makrofag yang memfagositosis lateks dan yang tidak memfagositosis lateks. Pada penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok, kelompok I normal (base line) diberi pakan standar, kelompok II (DMBA), kelompok III (Kadar 10 mg/kg BB), kelompok IV (Kadar 50 mg/kg BB) dan kelompok V (Kadar 100 mg/kg BB). Persentase makrofag yang memfagositosis lateks dihitung dari tiap sel makrofag pada setiap kelompok perlakuan (Chairul dan Pratiwi, 2009). Hasil pemeriksaan aktivitas fagositosis, kapasitas fagositosis dan indeks fagositosis makrofag hari ke-7 dan ke-34.

Hasil penelitian menunjukkan aktivitas fagositosis menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada kelompok EEKBR kadar 10 mg/kg BB, kadar 50 mg/kg BB dan kadar 100 mg/kg BB pada hari ke-7 dan menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada kelompok normal, kelompok EKKBR kadar 10 mg/kg BB, kadar 50 mg/kg BB dan kadar 100 mg/kg BB untuk aktivitas fagositosis hanya menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada kelompok normal pada hari ke-34. Pada kelompok yang diberikan DMBA terjadi penurunan aktivitas fagositosis mengalami peningkatan kembali pada pemberian EEKBR, seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.



Ket : *berbeda signifikan dengan kelompok DMBA ($p < 0,05$)

Gambar 4. Aktivitas fagositosis makrofag peritoneum tikus SD yang diinduksi DMBA 15 mg/ tikus dan diberi perlakuan EEKBR

4. KESIMPULAN

Ekstrak etanol kelopak bunga rosella dosis 100 mg/kg BB dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag tikus SD yang diinduksi DMBA hari ke-7 dan ke-34.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dirjen DIKTI atas pembiayaan melalui Hibah Penelitian TIM Pascasarjana pendukung pendanaan penelitian ini. Sertakan individu yang telah membantu anda dalam penelitian anda; penasihat, pendukung keuangan, atau mungkin pendukung lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kresno, S B. *Imunologi*. Fak Kedokt Univ Indones. 2001;
2. Kurniawan. A. *Aktivitas Antioksidan dan Potensi Hayati dari Kombinasi Ekstrak Empat Jenis Tanaman Obat Indonesia*. Skripsi, Inst Pertan Bogor, Bogor. 2011;
3. Kusmardi, Kumala S, Wulandari D. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Johar (Cassia siamea Lamk.)*

Terhadap Peningkatan Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag. *Karya Tulis Ilmiah, Fak Kedokteran Univ Indones Jakarta*. 2006;

4. M RTB, Widyarini S. *The Impact Of Mammary Carcinogenesis Induced By 7,12-Dimetilbenz (A) Anthracene On Histopathological Features Of The Gastric In Sprague Dawley Rat*. *J Veteriner, Bagian Patol Anat Fak Kedokt Hewan Univ Gadjah Mada*. 2010;11(1):17–23.
5. Shimada K, Seekkuarachchi I, Kumazawa H. *Absorption of CO₂ into Aqueous Solutions of Sterically Hindered Methyl Aminoethanol Using a Hydrophobic Microporous Hollow Fiber Contained Contactor*. *Chem Eng Commun*. 2006;38–54.
6. Simanjuntak A, Adrian A, Chiuman L, Tanamal C. *Antimicrobial Efficacy Of Papaya Seed Ethanolic Extract Against Salmonella Typhi That Causes Typhoid Fever*. *Jambura J Heal Sci Res*

- [Internet]. 2022;4(1):345–54. Available from:
<https://ejournal.ung.ac.id/index.php/jjhsr/article/view/11974>
7. Djuang MH, Syahputri NR, Silitonga R, Chiuman L. Antimicrobial Effectiveness Of Fruit Extracts Andaliman (Zanthoxylum Acanthopodium Dc) Against Staphylococcus Epidermidis Bacteria. Gorontalo J Heal Sci Community [Internet]. 2022;6(1):68–75. Available from:
<https://ejournal.ung.ac.id/index.php/gojhes/article/view/13792>
8. Abbas A, Lichman A. Cellular and Molecular Immunology. Philadelphia Elsevier Sci. 2003;
9. Akrom. Mekanisme Kemopreventif Ekstrak Heksan Biji Jinten Hitam (Nigella sativa Lor) Pada Tikus Sprague Dawley Diinduksi 7,12 Dimethylbenz (a)antracene: Kajian Antioksidan dan Imunomodulator. Ilmu Kedokteran dan Kesehatan Universitas Gadjah Mada. Disertasi Yogyakarta. 2012;
10. Apsari, Dwi P, Susanti H. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (Hibiscus Sabdariffa Linn) dengan Variasi Tempat Tumbuh secara Spektrofotometri. J Ilm Kefarmasian. 2011;2(1):73–80.
11. Alfian R. Penetapan Kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (Hibiscus sabdariffa Linn) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. Skripsi, Fak Farm Univ Ahmad Dahlan, Yogyakarta. 2012;
12. Baratawidjaja K. Imunologi Dasar, Edisi 7, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Umum Universitas Indonesia. 2006;
13. Idhayu A. Pengaruh Pemberian polifenol Teh Hijau Terhadap sekresi Nitrit Oksida (NO) Sel Fagosit. Karya Tulis Ilmiah, Fak Kedokt UNDIP, Semarang. 2006;