

EFEK IMUNOSTIMULAN EKSTRAK ETANOL DAUN SELEDRI TERHADAP MENCIT PUTIH JANTAN

Erjon^{1*}, Rani Jovanka¹, Sari Meisyayati¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang

*E-mail : erjonplg@gmail.com

ABSTRACT

The main active compound of celery is apigenin which is thought to have an immunostimulatory effect. This research aimed to evaluate the immunostimulatory effects of the ethanol extract of the celery leaf (*Apium graveolens* L.) using carbon clearance methods. The animal models used were albino mice male which were divided into 5 groups. Group I as negative control (tween 80%), group II, III, IV were given ethanol extract of celery leaves at a dose of 125 mg/kgbw, 250 mg/kgbw, 500 mg/kgbw, and group V as the positive control (Stimuno Forte®). The dosage is given orally in a single dose for 6 days. The results showed the administration of test preparations with a dose of 125 mg/kgbw, 250 mg/kgbw, 500 mg/kgbw showed the phagocytosis constant value, half-life and leukocyte values were significantly different from negative control ($p < 0.01$). Phagocytosis indices from test preparations with a dose of 125 mg/kgbw, 250 mg/kgbw, 500 mg/kgbw also show values greater than 1. It was concluded that the ethanol extract of celery leaves at a dose of 125 mg/kgbw, 250 mg/kgbw, 500 mg/kgbw is as immunostimulants.

Keywords : *Apium graveolens* L, carbon clearance, immunostimulants.

ABSTRAK

Senyawa aktif utama dari seledri adalah apigenin yang diduga mempunyai efek imunostimulan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek imunostimulan ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) menggunakan metode bersihan karbon. Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan. Hewan dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok I sebagai kontrol negatif (tween 80%), kelompok II, III, IV diberi ekstrak etanol daun seledri dengan dosis masing-masing 125 mg/kgbb, 250 mg/kgbb, 500 mg/kgbb dan kelompok V sebagai kontrol positif (Stimuno Forte®). Sediaan uji diberikan secara oral dengan dosis tunggal selama 6 hari. Hasil penelitian menunjukkan pemberian sediaan uji dengan dosis 125 mg/kgbb, 250 mg/kgbb, 500 mg/kgbb menunjukkan nilai konstanta fagositosis, waktu paruh dan nilai leukosit berbeda bermakna dengan kontrol negatif ($p < 0,01$). Indeks fagositosis dari sediaan uji dengan dosis 125 mg/kgbb, 250 mg/kgbb, 500 mg/kgbb juga menunjukkan nilai yang lebih besar dari 1. Disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun seledri dengan dosis 125 mg/kgbb, 250 mg/kgbb, 500 mg/kgbb bersifat sebagai imunostimulan.

Kata Kunci : *Apium graveolens* L, bersihan karbon, imunostimulan

PENDAHULUAN

Imunostimulan adalah senyawa yang dapat meningkatkan kerja sistem imun tubuh terhadap antigen yang masuk kedalam tubuh misalnya bakteri dan virus menyebabkan tubuh akan mudah terkena penyakit menular seperti influenza, diare, hingga HIV/AIDS. Obat imunostimulan banyak digunakan ketika sistem imun tubuh menurun. Senyawa ini sebagian besar bekerja dengan meningkatkan proliferasi sel dan menargetkan sel tujuan seperti makrofag, granulosit, limfosit T dan limfosit B.

Beberapa tanaman yang telah diuji sebagai agen imunostimulan yaitu meniran (*Phyllanthus niruri* L.) (Aldi et al, 2013), mengkudu (*Morinda citrifolia*) (Sasmito dkk, 2014), gambir (*Uncaria gambier* Roxb) (Zilhada et al, 2012) dan tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn) (Sukmayadi dkk, 2014).

Seledri merupakan salah satu tanaman obat potensial di Indonesia yang diduga memiliki efek dalam peningkatan sistem imun (imunostimulan). Seledri secara tradisional digunakan untuk mengobati rasa sakit pada rematik, nyeri pada lambung, melancarkan proses metabolisme dalam tubuh, membantu menjaga kekebalan tubuh, dan dapat memperbanyak air kencing (Rahayu, 2017). Kandungan utama dari seledri adalah senyawa flavonoid seperti apigenin. Kandungan senyawa lainnya adalah saponin, tanin, alkaloid, minyak asiri, dan vitamin (A, B dan C) (Fitria dan Saputra, 2016).

Penelitian yang telah dilakukan pada daun seledri yaitu sebagai antioksidan, dimana antioksidan berperan penting dalam meningkatkan fungsi sel-sel imun dengan menangkal radikal bebas yang masuk kedalam tubuh. Selain itu seledri juga diteliti dapat berperan sebagai herbal antistress, dimana kondisi stress dapat menyebabkan aktifitas sel NK menurun (Khalifah dan Lutfiah, 2010).

Dari pendekatan tersebut perlu ditentukan efek imunostimulan dari ekstrak daun seledri dengan menggunakan metoda *Carbon clearance*, dimana metode tersebut digunakan untuk mengukur aktivitas sel-sel fagosit untuk membunuh organisme patogen yang masuk kedalam tubuh.

METODE

Alat

Seperangkat alat destilasi, *rotary evaporator*, neraca analitik (HWH[®]), tabung eppendorf (Onemed[®]), plat tetes, vial, pipa kapiler (Neco 80[®]), cawan penguap, pisau bedah (General Care[®]), pipet mikro (Huawai[®]), spektrofotometri UV-Vis (Bel[®]), kaca arloji (Normax[®]), haemocytometer (Marienfeld[®]) dan mikroskop (Olympus[®]).

Bahan

Daun seledri (*Apium graveolens* L.), etanol destilat, tinta karbon (Prapatan[®]), NaCl 0,9% b/v, tween 80, aquadest, fitofarmaka (Stimuno forte[®]), K₂EDTA 10% b/v, reagen turk dan Na₂CO₃.

Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan sehat, galur swiss webster umur 2-3 bulan, bobot 20-30 gram sebanyak 25 ekor.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Pengujian efek imunostimulan dari ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) dengan metode bersihan karbon dan penentuan jumlah leukosit. Hewan percobaan yaitu mencit putih jantan, digunakan sebanyak 25 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok secara acak. kelompok I sebagai kontrol negatif (Tween 80 1%), kelompok II sebagai kontrol positif (Stimuno Forte[®]) 6,5 mg/kgbb, kelompok III diberi ekstrak daun seledri dosis 125 mg/kgbb, kelompok IV diberi ekstrak daun seledri dosis 250 mg/kgbb, kelompok V diberi ekstrak daun seledri dosis 500 mg/kgbb. Sediaan uji diberikan peroral sesuai dengan kelompoknya masing-masing selama 6 hari. Pada hari ke-7 ditentukan konstanta fagositosis (K), waktu paruh eliminasi (t_{1/2}), indek fagositosis (IF) dan jumlah leukosit.

Pengambilan sampel

Daun seledri (*Apium graveolens* L.) segar yang digunakan sebagai sampel diambil dari desa Bangke Kecamatan Kota Agung Kabupaten Lahat.

Proses ekstraksi daun seledri

Daun seledri (*Apium graveolens* L.) bersihkan dari pengotor, dicuci, dikering anginkan, dirajang kecil - kecil dan ditimbang sebanyak 500 gram, dimaserasi dengan etanol destilat. Selanjutnya maserat duapkan dengan didestilasi vakum dan dilanjutkan dengan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak kental.

Perencanaan dosis sediaan uji

Dosis yang digunakan mengacu pada penelitian sebelumnya (Sapri dkk, 2017), ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) yang digunakan pada mencit putih jantan dengan dosis 125 mg/kgbb, 250 mg/kgbb dan 500 mg/kgbb.

Pengujian Aktivitas Imunostimulan

Uji aktivitas imunostimulan dilakukan dengan metode bersihan karbon. Pada pengujian ini mencit dikelompokkan menjadi 5 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor. Tiap-tiap hewan percobaan diberikan sediaan uji satu kali sehari secara peroral selama 6 hari. Pada hari ke 7 mencit diinjeksi dengan suspensi karbon melalui vena ekor 0,2 ml/20 gbb, kemudian darah diambil pada menit ke 5 dan 15 melalui retro vena orbital dengan menggunakan pipa kapiler masing-masing sebanyak 50 µl dan dilisis dengan 4 ml natrium karbonat 1% dan diukur serapannya dengan UV-Vis pada panjang gelombang 675 nm (Necib, 2013). Di hitung konstanta fagositosis (K), waktu paruh karbon dalam darah ($t_{1/2}$) dan indeks fagositosis (IF) dengan menggunakan rumus :

$$K = \frac{\ln_{OD1} - \ln_{OD2}}{t_2 - t_1}$$

Keterangan:

- K : Konstanta fagositosis
- \ln_{OD1} : Absorban menit ke 5
- \ln_{OD2} : Absorban menit ke 15
- t_1 : Waktu awal (menit ke 5)
- t_2 : Waktu akhir (menit ke 15)

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{K}$$

Keterangan:

- $t_{1/2}$: Waktu paruh eliminasi karbon
- K : Konstanta fagositosis

$$IF = \frac{\text{Konstanta Fagositosis ekstrak}}{\text{Konstanta Fagositosis kontrol negatif}}$$

Keterangan

IF : Indeks Fagositosis

Perhitungan Jumlah Sel Leukosit

Ambil sebanyak 0,5 ml darah segera tambahkan K_2EDTA 10%. Sebanyak 10 µl darah tambahkan 10 µl reagen turk masukkan kedalam tabung eppendorf, kocok selama 3 menit. Kemudian teteskan larutan pada kamar hitung haemocytometer. Biarkan cairan selama 2 menit agar leukosit mengendap. Kemudian leukosit dihitung menggunakan mikroskop elektron (Setianingsih dkk, 2017).

$$\Sigma SDP = NI \times WP \times 2,5$$

Keterangan :

- ΣSDP : Jumlah sel darah putih
- WP : Besarnya pengenceran
- NI : Jumlah sel darah putih dalam 4 kotak

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan metode *Anova One Way* dilanjutkan dengan Uji *Duncan* dan *Pearson Correlation*.

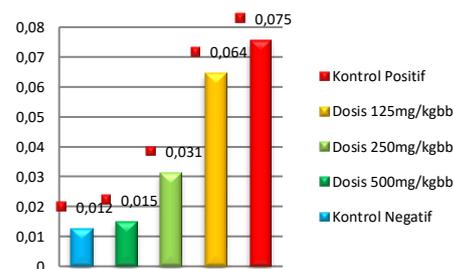
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Data hasil penelitian di sajikan dalam bentuk tabel dan gambar sebagai berikut :

Tabel 1. Rerata nilai konstanta fagositosis kelompok uji

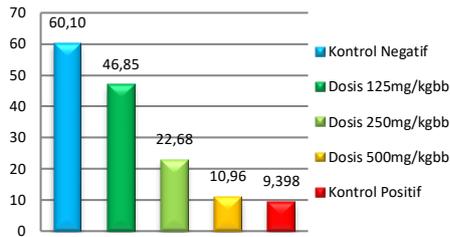
Kelompok Perlakuan	Rerata ± SD Konstanta Fagositosis (per menit)
Kontrol negatif	0,012 ± 0,005
Dosis 125 mg/kgbb	0,015 ± 0,002
Dosis 250 mg/kgbb	0,031 ± 0,005
Dosis 500 mg/kgbb	0,064 ± 0,010
Kontrol positif	0,075 ± 0,013



Gambar 1. Diagram batang rerata nilai Konstanta Fagositosis kelompok uji

Tabel 2. Rerata waktu paruh eliminasi karbon kelompok uji

Kelompok Perlakuan	Rerata ± SD waktu Paruh Eliminasi Karbon (menit)
Kontrol negatif	60, 10 ± 18, 54
Dosis 125 mg/kgbb	46, 85 ± 6, 954
Dosis 250 mg/kgbb	22, 68 ± 4, 251
Dosis 500 mg/kgbb	10, 96 ± 1,992
Kontrol positif	9, 398 ± 1,894



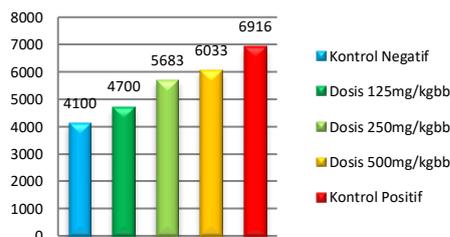
Gambar 2. Diagram batang rerata waktu paruh eliminasi karbon kelompok uji

Tabel 3. Nilai indek fagositosis kelompok uji

Kelompok Perlakuan	Indek Fagositosis
Dosis 125 mg/kgbb	1,25
Dosis 250 mg/kgbb	2,58
Dosis 500 mg/kgbb	5,00
Kontrol Positif	6,25

Tabel 4. Rerata jumlah sel leukosit kelompok uji

Kelompok Perlakuan	Rerata ± SD Jumlah Leukosit (sel/mm ³)
Kontrol Negatif	4100 ± 50,00
Dosis 125 mg/kgbb	4700 ± 180,2
Dosis 250 mg/kgbb	5683 ± 125,8
Dosis 500 mg/kgbb	6033 ± 202,0
Kontrol Positif	6916 ± 104,0



Gambar 3. Diagram batang rerata jumlah sel leukosit kelompok uji.

Pembahasan

Metode yang digunakan untuk penentuan efek imunostimulan dari ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) adalah metode bersihan karbon dan peningkatan jumlah sel leukosit. Dimana dengan metode ini dapat dilihat aktivitas fagositik. Aktivitas fagositik berpengaruh pada respon imun non spesifik yaitu pertahanan seluler fagosit. Ketika sel - sel fagosit mendeteksi adanya mikroorganism/antigen maka akan terjadi proses kemotaksis yaitu pergerakan sel fagosit menuju

antigen dan partikel tersebut akan melekat pada membran sel fagosit. Sel fagosit akan menyelubungi seluruh permukaan partikel asing, menelannya dan lisosom akan menghancurkan partikel asing tersebut. Parameter yang diamati yaitu konstanta fagositosis, waktu paruh karbon dalam darah, indek fagositosis dan jumlah sel leukosit.

Sebagai antigen yang digunakan adalah tinta karbon, karena tinta karbon stabil dalam aliran darah dan tidak menyebabkan thrombosis. Pada saat karbon tinta diinjeksikan secara intravena maka karbon akan difagositosis oleh makrofag. Penurunan konsentrasi karbon di dalam darah diukur dengan spektrofotometri UV-Vis panjang gelombang 675 nm (Aribi, 2013). Hasil yang didapatkan adalah adanya penurunan serapan darah spektrofotometri UV-Vis dari menit 5 ke menit 15 yang menunjukkan semakin rendah nilai absorbansi maka konsentrasi karbon yang tinggal di dalam darah semakin sedikit. Hal ini karena adanya proses fagositosis karbon di dalam darah sehingga akan menurunkan nilai absorban. Perbedaan nilai absorban dari menit ke 5 dan 15 dapat dikonversi menjadi nilai konstanta fagositosis (Raj, 2015).

Hasil pengukuran rata-rata nilai konstanta fagositosis dapat dilihat pada tabel 4.1. Dari tabel tersebut nilai konstanta fagositosis dapat diurut dari yang terkecil ke yang terbesar adalah dari kelompok kontrol negatif, diikuti oleh kelompok perlakuan dosis 125 mg/kgbb, 250 mg/kgbb, 500 mg/kgbb, dan kelompok kontrol positif yaitu berturut-turut 0,013/menit, 0,015/menit, 0,031/menit, 0,064/menit dan 0,076/menit. Peningkatan nilai konstanta fagositosis menunjukan peningkatan kemampuan untuk melakukan fagositosis. Dengan demikian ekstrak daun seledri dengan dosis 125, 250 dan 500 mg/kgbb mempunyai kemampuan untuk melakukan fagositosis.

Dari nilai konstanta fagositosis dapat dihitung waktu paruh eliminasi karbon. Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh data rata-rata nilai waktu eliminasi karbon (Tabel 4.2). Dari tabel tersebut dapat diurut dari yang terbesar ke yang terkecil kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan dengan dosis 125 mg/kgbb, 250 mg/kgbb, 500 mg/kgbb dan kontrol positif yaitu berturut-turut 60,105 menit, 46,856 menit, 22,680 menit, 10,968 menit dan 9,398 menit. Penurunan waktu eliminasi karbon di dalam darah menunjukan peningkatan kemampuan untuk melakukan fagositosis.

Pada penentuan jumlah leukosit sebagai antikoagulan digunakan larutan K₂EDTA 10%. K₂EDTA dipilih karena menunjukkan stabilitas yang lebih baik dibandingkan antikoagulan yang lain karena darah dengan antikoagulan ini tidak menunjukkan ada perubahan pH pada darah. Reagen Turk digunakan untuk melisiskan sel lain

selain leukosit dan gentian violet untuk memberi warna pada inti dan granula leukosit (Isnarni, 2010). Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh data rata-rata jumlah sel leukosit (Tabel 4.3). Dari tabel tersebut jumlah sel leukosit terbesar adalah kelompok kontrol positif yaitu 6916 sel/mm³ dan jumlah sel leukosit terkecil adalah kelompok kontrol negatif yaitu 4100 sel/mm³ yang diikuti kelompok perlakuan dosis 125 mg/kgbb, 250 mg/kgbb dan 500 mg/kgbb yaitu 4700 sel/mm³, 5683 sel/mm³ dan 6033 sel/mm³. Peningkatan jumlah sel leukosit menunjukkan adanya peningkatan imunitas. Semakin besar jumlah sel leukosit maka proses fagositosis meningkat dan eliminasi antigen semakin cepat.

Nilai indeks fagositosis dari ekstrak 125, 250 dan 500 mg/kgbb serta kontrol positif adalah 1,25 ; 2,58 ; 5,00 ; dan 6,25. Nilai indeks fagositosis menunjukkan aktivitas fagositosis sel-sel fagositik terhadap partikel karbon sebagai antigen akibat pengaruh pemberian ekstrak daun seledri. Apabila nilai rata-rata indeks fagositosis lebih besar dari satu (IF >1) menunjukkan zat uji tersebut mempunyai kemampuan imunostimulan. Hal ini menunjukkan ekstrak daun seledri dengan dosis 125, 250 dan 500 mg/kgbb mempunyai kemampuan untuk meningkatkan sistem pertahanan tubuh terhadap aktivitas fagositosis sel fagositik

Hasil penelitian ini dianalisis menggunakan program aplikasi SPSS menggunakan uji *one way anova* dilanjutkan dengan uji *duncan* dan *pearson correlations* dengan kepercayaan 95%. Pada kolom *test of normality* dan kolom *test of homogeneity of variances* terlihat bahwa nilai konstanta fagositosis dan waktu paruh ($p < 0,05$) yang berarti bahwa setiap kelompok perlakuan tidak berdistribusi normal dan tidak mempunyai varian yang sama. Sedangkan pada nilai jumlah leukosit ($p > 0,05$) yang berarti bahwa setiap kelompok perlakuan berdistribusi normal dan mempunyai varian yang sama. Oleh karena itu nilai konstanta fagositosis dan waktu paruh perlu dilakukan transformasi data (log) untuk memperoleh data yang normal dan homogen. Transformasi data yang dipilih yaitu transformasi data logaritma karena data yang didapat bernilai positif dan tidak mempunyai varian yang sama (Ohyver, 2013). Setelah ditransformasikan pada kolom *test of normality* (Lampiran 16) dan kolom *test of homogeneity of variances* (Lampiran 16) terlihat bahwa nilai konstanta fagositosis dan waktu paruh ($p > 0,05$) yang berarti bahwa setiap kelompok perlakuan berdistribusi normal dan mempunyai varian yang sama. Berdasarkan hasil statistik *one way annova* menunjukkan bahwa nilai konstanta fagositosis, waktu paruh dan jumlah sel leukosit semua sediaan uji berbeda bermakna ($p < 0,05$) maka dari itu diperlukan uji lanjutan menggunakan *Duncan*.

Berdasarkan hasil uji statistik *Duncan* dapat dilihat nilai konstanta fagositosis memiliki tiga

subset dimana kelompok kontrol negatif dan ekstrak daun seledri dosis 125 mg/kgbb tidak berbeda nyata karena terletak pada subset yang sama. Sedangkan untuk ekstrak daun seledri dosis 250 mg/kgbb, 500 mg/kgbb dan kontrol positif berbeda nyata karena terletak pada subset yang berbeda. nilai waktu paruh juga memiliki 3 subset dimana kelompok kontrol positif dan ekstrak daun seledri dosis 500 mg/kgbb tidak berbeda nyata karena terletak pada subset yang sama. Sedangkan untuk ekstrak daun seledri dosis 250 mg/kgbb, 125 mg/kgbb dan kontrol negatif berbeda nyata karena terletak pada subset yang berbeda. Uji *Duncan* pada jumlah sel leukosit berbeda nyata karena kelompok uji terletak pada subset yang berbeda satu sama lain.

Selanjutnya dilakukan uji statistik *Pearson Correlation* untuk melihat hubungan antara peningkatan dosis ekstrak etanol daun seledri terhadap peningkatan efek imunostimulan. Dari nilai konstanta fagositosis terlihat bahwa nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) artinya terdapat korelasi yang signifikan dan sangat kuat antara peningkatan dosis ekstrak daun seledri dengan nilai konstanta fagositosis. Sedangkan nilai $r = 0,933$ yang menunjukkan nilai positif artinya besar dosis yang diberikan berbanding lurus dengan nilai konstanta fagositosis. Semakin tinggi dosis maka nilai konstanta fagositosisnya semakin besar. Dari nilai waktu paruh terlihat bahwa nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) artinya terdapat korelasi yang signifikan dan sangat kuat antara peningkatan dosis ekstrak daun seledri dengan nilai waktu paruh. Sedangkan nilai $r = -0,880$ yang menunjukkan nilai negatif artinya besar dosis yang diberikan berbanding terbalik dengan nilai waktu paruhnya. Semakin tinggi dosis maka nilai waktu paruh semakin kecil. Dari jumlah nilai leukosit terlihat bahwa $p = 0,000$ ($p < 0,05$) artinya terdapat korelasi yang signifikan dan sangat kuat antara peningkatan dosis ekstrak daun seledri dengan jumlah nilai leukosit. Sedangkan nilai $r = 0,973$ yang menunjukkan nilai positif artinya besar dosis yang diberikan berbanding lurus dengan jumlah nilai leukosit. Semakin tinggi dosis maka jumlah nilai leukosit semakin besar.

Dari hasil penelitian dapat dilihat bahwa ekstrak daun seledri dapat menimbulkan efek imunostimulan terhadap mencit putih jantan mulai dari pemberian dosis terkecil yaitu 125 mg/kgbb hingga kontrol pembanding Stimuno Forte®. Dari nilai konstanta fagositosis terlihat kecepatan proses fagositosis tercepat dari kelompok perlakuan adalah kontrol pembanding Stimuno Forte® dilanjutkan dengan ekstrak daun seledri dosis 500 mg/kgbb diikuti dengan dosis 250 mg/kgbb, 125 mg/kgbb dan kontrol negatif. Dari waktu paruh karbon terlihat bahwa eliminasi karbon tersingkat dari kelompok perlakuan adalah kontrol pembanding Stimuno forte® dilanjutkan dengan ekstrak daun seledri dosis 500 mg/kgbb diikuti

dengan dosis 250 mg/kgbb, 125 mg/kgbb dan kontrol negatif. Dari jumlah nilai leukosit terbesar dari kelompok perlakuan adalah kontrol pembanding Stimuno forte® dilanjutkan dengan ekstrak daun seledri dosis 500 mg/kgbb diikuti dengan dosis 250 mg/kgbb 125 mg/kgbb dan kontrol negatif. Mekanisme terjadinya efek imunostimulan ekstrak daun seledri ini diduga karena adanya kandungan senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan imunostimulator alami dan antioksidan untuk meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag dengan menangkalkan radikal bebas yang masuk kedalam tubuh (Hasdianah dkk, 2014).

SIMPULAN

1. Ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) dengan dosis 125 mg/kgbb, 250 mg/kgbb dan 500 mg/kgbb memiliki efek imunostimulan terhadap mencit putih jantan galur *Swiss Webster*.
2. Peningkatan dosis ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) dapat meningkatkan efek imunostimulan secara signifikan pada mencit putih jantan galur *Swiss Webster*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aldi, Y., Ogianan, N., Handayani, D. 2013. Uji Imunomodulator Beberapa Subfraksi Ekstrak Etil Asetat Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Pada Mencit Putih Jantan Dengan Metode Carbon Clearance. *Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik*, 3, 134-146.
- Aribi, B., Zarizer, S., Kabouche, Z. 2013. Immunomodulatory Activity of *Argania Spinosa* Seeds. *International Journal Of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5, 488-491.
- Djamal, Rusjdi. 2012. *Kimia bahan alam: prinsip-prinsip dasar isolasi dan identifikasi*. Padang : Universitas Baiturrahmah.
- Fitria, T., dan Saputra, O. 2016. Khasiat Daun Seledri (*Apium graveolens*) Terhadap Tekanan Darah Tinggi Pada Pasien Hiperkolestrolema. *Medical Journal of Lampung University*, 5, 120-125.
- Gunawan, S.G. 2012. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta : Balai Penerbit FKUI.
- Hasdianah, Dewi, P., Peristiowati, Imam, S. 2014. *Imunologi: Diagnosis dan Teknik Biologi Molekuler*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Khalifah, S.N., dan Lutfiah, N. 2010. Religiopsikoneuroimunologi Al-Quran Studi Kolaborasi Terapi Al Quran dan Fungsi Otak Dalam Menghadapi Stres. *Jurnal Buletin Psikologi*, 18, 19-28.
- Kurnianingtyas, E., Djati, M.S., Rifa, M. 2013. Aktivitas Imunomodulator Polyscias Obtusa Terhadap Sistem Imunitas Pada Bone Marrow Broiler Setelah Pemberian *Salmonella thphimurium*. *Journal Experience Life Science*, 3, 25-30.
- Ohyver, Margaretha. 2013. Penerapan Metode Transformasi Logaritma Natural dan Partial Least Squares Untuk Memperoleh Model Bebas Multikolinier dan Outlier. *Jurnal Mat Stat*, 13, 42-51.
- Rahayu, S. 2017. *Sehat Tanpa Obat Dengan Seledri*. Yogyakarta: Rapha Publishing.
- Sapri, Siswanto, E., Yulianti, A. 2017. Uji Antiinflamasi Fraksi Air Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Pada Mencit Jantan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2, 60-67.
- Sasmito, E., Nugroho, A.E., Sagala Y.V. 2014. Efek Penghambatan Ekstrak N-Heksana Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap Reaksi Anafilaksis Kutaneus Aktif Pada Tikus Wistar Yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B. *Traditional Medicine Journal*, 19, 36-42.
- Setianingsih, N., Ula, A.M., Purnamasari, R. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Metanol Daging Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) Terhadap Jumlah Total Leukosit Embrio Mencit (*Mus musculus*). *Prosiding seminar III. Biologi, Pembelajaran, dan Lingkungan Hidup Perspektif Interdisipliner*: 111-115. Surabaya, 29 April 2017: Prodi Pendidikan Biologi-FKIP.
- Subowo. 2009. *Imunologi Edisi III*. Jakarta: Sagung Seto.
- Subowo. 2014. *Imunobiologi Edisi II*. Jakarta: Sagung Seto.
- Sukmayadi, A. E., Sumiwi S. A., Barliana M. I., Aryanti A. D. 2014. Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn.). *Indonesian Journal Of Pharmaceutical Science and Technology*, 1, 65-72.
- Wongtawatchai, T., Sarsutham, K., Suktetsiri, W., Tipmanee, V. Chonpathompikunlert, P. 2017. Antistress effect of *Apium graveolens* on rats subjected to immobilization. *International Food Research Journal*, 24, 1490-1499.
- Zilhadia, Wiraswasti, Y., Chairul. 2012. Uji Efek Imunomodulator Katekin Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) Menggunakan Parameter

Bersihan Karbon Secara In Vivo. *Jurnal
Bahan Alam Indonesia*, 8, 181-186.