

## EFEKTIFITAS IMUNOSTIMULAN DARI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona mucirata*) PADA TIKUS JANTAN DENGAN METODE HYPERSENSITIVITAS TIPE LAMBAT

Suci Wulandari<sup>1</sup>, Ahmad Syukur Hasibuan<sup>2</sup>, Cucu Arum Dwi Cahya<sup>3</sup>

Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam

e-mail: [sucici19@gmail.com](mailto:sucici19@gmail.com)

DOI : <https://doi.org/10.35451/jfm.v2i1.304>

### Abstract

*This research aims to determine the effectiveness of immunostimulant from ethanol extract of parasite coffee leaves with four dose variants. This research used 18 male white rats with 200 grams of weight divided into 6 treatment groups. The rats were induced with Escherichia coli for 7 consecutive days intra-peritoneum, then on the 7th day gave a mark on the rat's feet that had been measured (V0). Ethanol extract of parasite coffee leaves with 50mg / kg weight, 100mg / kg weight, 200mg / kg weight, 400mg / kg weight, 0.5% CMC Na suspension, and 25 mg / kg weight STIMUNO suspension as positive control were given orally on 8<sup>th</sup> day, after 24 hours of administration the volume of the rat's feet was measured again, then all data from each group was processed using the ANOVA test. The results showed that the ethanol extract of the parasite coffee leaves proved to be effective as an immunostimulant. This is attested by reduction in the volume of swelling in the leg of a rat which tested by the slow type hypersensitivity. It's said to be effective because it had an approaching value positive control that is 25 mg stimuno starting from 200 mg/kg / weight dose to 400 mg/kg / weight. With an average reduction in the volume of swelling 1.4 mm for dosage of 400 mg/kg / weight and 1.2 mm for dosage of 200 mg/kg / weight.*

**Keywords:** *Soursop Leaves (Annona mucirata), Volume Reduction of Swelling in the leg of a rat, Slow Type Hypersensitivity.*

### PENDAHULUAN

Terapi kanker yang dilakukan seperti pembedahan, radioterapi dan kemoterapi, tetapi belum didapatkan hasil yang sesuai dari ketiga jenis terapi tersebut. Dari beberapa terapi tersebut mungkin ada efek samping yang berbahaya bagi pasien. Kegagalan terapi yang umum terjadi pada saat pengobatan, utamanya melalui kemoterapi adalah disebabkan karena rendahnya selektifitas obat-obat antikanker terhadap sel normal. Selain itu kegagalan kemoterapi tersebut juga

disebabkan karena resistensi sel kanker terhadap agen-agen kemoterapi (Rahim 2017).

Hal tersebut dapat disebut sebagai fenomena Multi Drug Resistance (MDR) yang dapat meningkatkan tingkat toksisitas obat yang digunakan untuk terapi (Conze et al 2017)

Sirsak (*Annona muricata L.*) merupakan tanaman yang berasal dari negara Amerika Selatan, yaitu Meksiko. Keberadaan tanaman tersebut diduga dibawa oleh orang Belanda semasa zaman penjajahan. Tanaman ini telah

menyebarkan di seluruh pelosok Indonesia, walaupun masih ditanam di pekarangan rumah. Penyebaran tanaman sirsak di Indonesia dapat dijumpai di daerah Jawa Barat, terutama Rajamandala dan Bandung Selatan serta Jawa Tengah di daerah Karanganyar (Sunarjono 2005).

Tanaman sirsak diklasifikasikan berasal dari kingdom Plantae, dari superdivisi Spermatophyta, divisi Magnoliophyta. Kelas dari tanaman ini adalah Magnoliopsida dengan subkelas Magnoliidae. Sirsak berasal dari ordo Magnoliales, dari famili Annonaceae. Genus dari tanaman ini adalah *Annona* dan spesiesnya adalah *Annona muricata*.

Sirsak dapat tumbuh pada daerah tropis dan subtropis (Orwa et al 2009). Buah sirsak memiliki bentuk hati yang dikelilingi oleh sesuatu yang berbentuk seperti duri yang tumpul, kulit buah sirsak berwarna hijau tua. Sirsak dapat tumbuh pada semua jenis tanah dengan derajat keasaman (pH) antara 5-7. Tanah yang sesuai adalah tanah agak asam sampai agak alkalis, namun yang memiliki bahan organik yang tinggi. Tumbuh subur di ketinggian antara 100-300 mdpl (di atas permukaan laut). Suhu udara yang sesuai antara 22-32°C dengan curah hujan antara 1.500-3.000 mm/tahun. Lokasi yang disenangi tanaman sirsak diantaranya lahan yang terbuka, tidak ada naungan, dan tidak ada kabut. Tanaman sirsak memerlukan sinar matahari antara 50-70% (Sunarjono 2005).

Seluruh bagian tanaman sirsak dapat digunakan sebagai obat tradisional, termasuk kulit kayu, daun, akar, buah, dan biji. Buah sirsak umumnya digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh cacing dan parasit, mengobati demam, meningkatkan produksi ASI pada ibu menyusui, dan untuk diare dan disentri. Biji yang dihancurkan dapat digunakan sebagai

vermifug dan antelmintik terhadap internal dan eksternal parasit dan cacing (Taylor 2002).

Bagian lain pada tanaman sirsak yang terkenal dapat digunakan sebagai obat-obatan adalah daun (Gambar 1). Daun sirsak banyak dimanfaatkan sebagai obat herbal seperti untuk penyakit kulit, rematik, batuk dan flu, serta antikanker (Orwa et al 2009), dan hipertensi (Lans 2006). Khasiat lain dari daun sirsak adalah sebagai antispasmodik dan memberi efek menenangkan. Daun sirsak biasa dikonsumsi dalam bentuk teh. Teh daun sirsak digunakan sebagai obat radang selaput lendir hidung. Rebusan daun sirsak juga efektif digunakan untuk kutu rambut dan kutu busuk. Daun segar yang dihaluskan mampu membantu penyembuhan luka pada kulit. Penduduk di beberapa negara seperti Brazil dan Peru diketahui menggunakan daun sirsak sebagai obat diabetes (Taylor 2002).

Menurut Asprey & Thornton (2000), daun sirsak mengandung flavonoid, alkaloid, asam lemak, fitosterol, mirisil alkohol dan ananol. Senyawa pada daun sirsak yang diduga memiliki khasiat antidiabetes adalah senyawa alkaloid dan flavonoid.

Senyawa flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah, dan biji. Kebanyakan flavonoid berada di dalam tumbuh-tumbuhan kecuali alga (Pulungan, et al., 2018).

Flavanoid adalah senyawa polifenol yang banyak ditemukan pada epidermis daun-daunan kulit buah-buahan dan memiliki peranan penting dalam kehidupan manusia sebagai antioksidan, antimutagenik, antineoplastik dan aktivitas vasodilatator (Yulian, 2017; Kaban, 2019).

Makrofag merupakan salah satu sel yang berperan penting dalam respon imun, baik berperan fungsional dalam fagositosis maupun perannya sebagai antigen presenting cells (APC). Dalam melakukan kedua peran tersebut, bantuan mediator endogen seperti sitokin, sudah pasti dibutuhkan. Sedangkan kebutuhan akan mediator eksogen seperti karoten dan flavonoid masih perlu penelitian mendalam (Okansi, 2018).

Suatu zat yang berperan sebagai penambah atau peningkat imun dapat diperoleh dengan penggunaan herbal yang berkhasiat sebagai imunostimulan. Salah satu herbal yang digunakan adalah ekstrak etanol daun benalu kopi yang menurut peneliti sebelumnya berpotensi sebagai imunomodulator dengan aktivitas antioksidan yang tinggi (Achmad et al., 2018).

Imunomodulator adalah suatu senyawa yang dapat mempengaruhi sistem imun humoral maupun seluler. Ada dua tipe imunomodulator, yaitu imunostimulator (meningkatkan sistem imun) dan immunosupresor (menekan sistem imun). Beberapa senyawa yang terkandung dalam tumbuhan mempunyai efek imunostimulator dan immunosupresor, Immunomodulator berkaitan dengan aktivitas dan kapasitas makrofag (Rahim, M., 2017).

Metode hipersensitivitas tipe lambat merupakan suatu metode yang sederhana untuk pengujian efek imunostimulator (Yuswantia, 2016)

Uji efektivitas sistem imun dapat dilakukan dengan metode titer antibody yang ditentukan berdasarkan pengenceran terakhir dimana antibody masih terdeteksi melalui hemaglutinasi yang terlibat secara visual. Nilai titer antibody tersebut selanjutnya ditransformasikan dengan  $[2\log(\text{titer}+1)]$  (Marbun, 2018)

Berdasarkan pertimbangan di atas, penulis merasa penting dan perlu untuk melakukan pengujian efek imunostimulator dari ekstrak etanol daun sirsak (*Annona mucirata*) pada tikus jantan. Maka, diperlukan penelitian ilmiah seperti penelitian dan pengujian imunostimulator di bidang farmakologi.

## **METODE**

### **Alat dan bahan**

Alat dan bahan yang digunakan yaitu rotari evaporator, pletismometer air raksa, cawan penguap, beaker glas, timbangan analitik, tabung reaksi, CMC Na, alkohol 96%, NaCl, ekstrak daun sirsak.

### **Hewan percobaan**

Hewan yang digunakan yaitu tikus putih dengan jumlah 18 ekor dengan berat 150-200 gram yang diperlakukan dengan menyergamkan makanan.

### **Kelompok dosis uji**

Dosis yang dipakai dalam penelitian berdasarkan penelitian sebelumnya tentang aktivitas dan vasorelaksan daun sirsak yaitu 50mg/kg/BB, 100mg/kg/BB, 200mg/kg/BB, dan 400mg/kg/BB. Masing-masing terdiri 3 ekor tikus pada setiap kelompok.

### **Pembuatan sediaan uji**

Ditimbang ekstrak sebanyak 50mg, dimasukkan kedalam lumpang, kemudian tuang sedikit demi sedikit suspensi CMC Na 0,5% sambil digerus hingga homogen, setelah homogen dimasukkan kedalam labu tentukur 100ml.

### **Skrining fitokimia**

Fitokimia digunakan untuk menguji ada tidaknya senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan secara kualitatif. Metode yang digunakan untuk mencari dan menemukan senyawa bioaktif adalah pendekatan skrining

fitikima (phytopharmacologic screening approaches) IC50 terbaik untuk mengetahui golongan metabolit sekunder yang diduga bertanggungjawab terhadap aktivitas biologis daun benalu kopi menggunakan prosedur spesifik untuk masing-masing golongan metabolit sekunder.

#### 1. Pemeriksaan alkaloid

Sampel ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian ditambahkan 1ml asam klorida 2N dan 9ml air suling, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dipakai untuk uji alkaloid. Lalu dibagi menjadi 3 tabung masing-masing tabung ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer, 2 tetes pereaksi bouchardat, 2 tetes pereaksi dragendroff. Alkaloid positif apabila terjadi 2 sampai 3 endapan disetiap percobaan.

#### 2. Pemeriksaan flavonoid

Sampel ditimbang 5g, lalu ditambahkan 10 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas. Kedalam filtrat dimasukan serbuk magnesium dan 1ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol. Diguncang hingga terpisah. Flavonoid positif apabila terjadi warna kuning, jingga atau merah pada lapisan amil alkohol.

#### 3. Pemeriksaan tanin

Sampel ditimbang sebanyak 1g dipanaskan selama 3 menit dalam air suling hingga mendidih kemudian didinginkan dan disaring. sisa filtrat ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1% b/v. Apabila terbentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

#### 4. Pemeriksaan saponin

Sampel ditimbang 0,5g dan dimasukan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10ml air panas,

didinginkan, kemudian diguncang kuat selama 10 menit. Jika terbentuk busa setinggi 1-10cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit tidak hilang apabila ditambahkan 1 tetes asam klorida 2N maka menunjukkan adanya saponin.

#### 5. Pemeriksaan glikosida

Sampel ditimbang 3g lalu disari dengan 30ml alkohol-air (7:3) dan 10ml asam klorida 2N, direfluk selama 2 jam, didinginkan dan disaring. Diambil 20ml filtrat, ditambahkan air suling 25 ml dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok, di tunggu selama 5 menit, lalu disaring. Filtrat dicampurkan dengan campuran kloroform-isopropanol (3:2) sebanyak 3 kali. Sisa dari sari ditambahkan dengan natrium sulfat anhidrat, disaring dan diuapkan pada suhu tidak lebih dari 50°C. Sisanya dilarutkan dengan 2 ml metanol, larutan sisa dimasukan kedalam tabung reaksi, diuapkan diatas waterbath. Sisa sampel ditambahkan 2 ml aquades dan 5 tetes pereaksi molish. Ditambahkan hati-hati 2 ml asam sulfat pekat, terbentuk cincin berwarna ungu kebiruan pada batasan cairan menunjukkan adanya ikatan gula.

#### 6. Pemeriksaan steroid

Sampel ditimbang sebanyak 1g, dimaserasi dengan pereaksi 20 ml n-heksan selama 2 jam, disaring. Filtrat diuapkan dalam cawan penguap dan pada sisanya ditambahkan pereaksi pekat melalui dinding cawan. Apabila terbentuk warna ungu atau merah yang

#### **Perlakuan hewan uji**

Hewan dikelompokkan atas 6 kelompok yang antara lain 1 kelompok dengan suspensi CMC Na 0,5%,

kelompok ke dua dengan suspensi stimuno 25mg, yang ke tiga dengan suspensi ekstrak dengan dosis 50mg/kg/BB, yang ke empat dengan suspensi ekstrak dengan dosis 100mg/kg/BB, yang ke lima dengan suspensi ekstrak dengan dosis 200mg/kg/BB, yang ke enam dengan suspensi ekstrak dengan dosis 400mg/kg/BB. Setiap kelompok hewan percobaan diinjeksikan inokulum e.coli secapa i.p sebagai antigen dengan 0,1 inokulum, perlakuan dimulai pada hari ke-0.

Pada hari ke 7 sendi tikus diukur kemudian diberi batas pengukuran. Volume pembengkakan kaki tikus diukur kemudian data diolah menggunakan uji analisa varian (ANOVA) satu arah. Metode Pengujian Hipersensitifitas Type Lambat

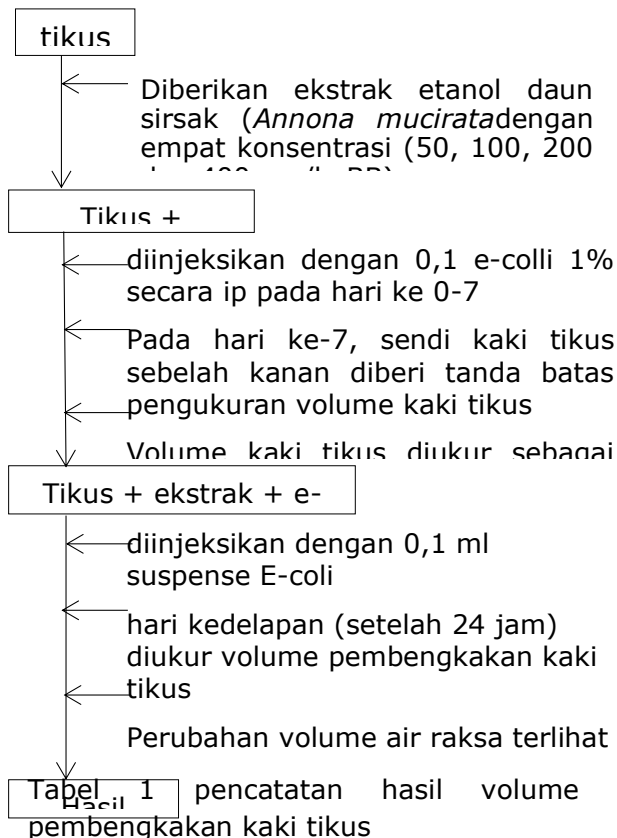


Table 2: Uji skrining fitokimia

No	Dosis	Tikus	Volume Pembengkakan kaki tikus			Rata-rata
			Sebelum	Sesudah	Selanjutnya	
1	50 mg/kg gBB	1	2,12	1,2	0,92	0,92
		2	2,12	1,2	0,92	
		3	2,13	1,2	0,93	
2	100 mg/kg gBB	1	2,12	1,2	0,92	0,95
		2	2,12	1,14	0,98	
		3	2,13	1,19	0,94	
3	200 mg/kg gBB	1	2,12	0,92	1,2	1,2
		2	2,12	1,02	1,1	
		3	2,13	0,93	1,2	
4	400 mg/kg gBB	1	2,12	0,82	1,3	1,4
		2	2,12	0,72	1,4	
		3	2,13	0,83	1,3	
5	STIM UNO	1	2,12	0,45	1,67	1,6
		2	2,12	0,47	1,65	
		3	2,13	0,48	1,65	
6	Blanko	1	2,12	1,47	0,65	0,64
		2	2,12	1,4	0,63	
		3	2,13	1,48	0,65	

No	Skrining	Ekstrak
1	Alkaloida	+
2	Flavonoid	+
3	Tanin	+
4	Saponin	+
5	Glikosida	+
6	Steroid/triterpenoid	-

Keterangan : + = Mengandung golongan senyawa

- = tidak ada

Table diatas menunjukkan bahwa hasil uji fitokimia sampel daun sirsak mengandung senyawa alkaloid, tannin, saponin, glikosida dan flavonoid.

Jenis penelitian yang digunakan adalah Experiment Laboratorium. Penelitian ini menggunakan uji parametrik Anova One Way.

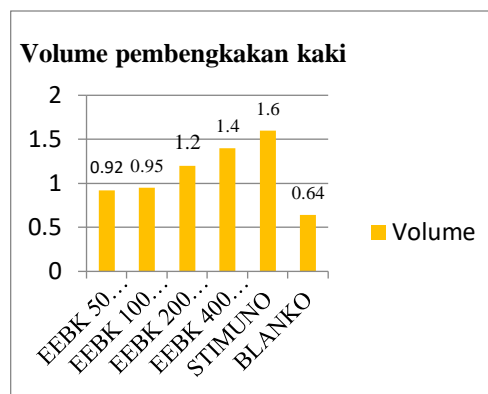
Sampel yang dipakai adalah Ekstrak. Data yang didapatkan dianalisa menggunakan SPSS dengan uji *Anova*. Yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tuckey* untuk melihat variable yang memiliki nilai signifikasi  $p < 0,05$

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji fitokimia sampel daun sirsak mengandung senyawa alkaloid, tannin, saponin, glikosida dan flavonoid. Dari 1500 gram sampel kering dimaserasi menggunakan rotari evaporator hingga mendapatkan 30 gram ekstrak. Ekstrak yang kental memiliki bau yang khas, hijau kehitaman .

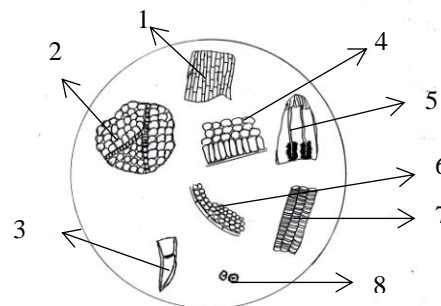
Hasil penelitian menggunakan ekstrak yang diberikan selama 7 hari pada dosis 50mgkg/BB dan dosis 100mgkg/BB masi memberikan efek seperti kontrol negatif. Namun pada dosis 100mgkg/BB sudah mulaimengarah ke kontrol positif, pada dosis 400mgkg/BB hasil pengukuran volume pembengkakakn kaki tikus mendekati kontrol positif stimuno dengan nilai rata-rata 1,6 yaitu dengan rata-rata 1,4.

Berdasarkan hasil yang didapatkan dengan variasi dosis pada ekstrak Dengan mengukur volume pembengkakan tikus menggunakan alat pletisnometer air raksa, dengan menggunakan metode hipersensitivitas type lambat maka didapatpada gambar.



Gambar 1: Volume pembengkakan kaki tikus

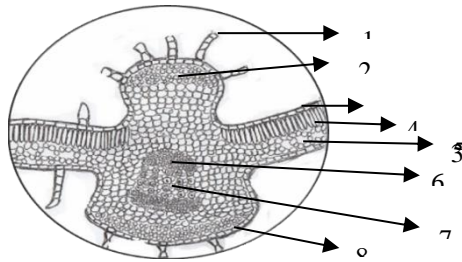
Gambar 2: Pemeriksaan secara mikroskopik



Keterangan gambar:  
 Parenkim tangkai daun (1),  
 Parenkim daun dengan hablur kalsium oksalat (2),  
 Rambut penutup (3),  
 Fragmen palisade dan parenkim daun (4),  
 Fragmen mahkota bunga dengan kelopak (5),  
 Fragmen parenkim pericarp (6),  
 Trakea (7),  
 Serbuk sari (8)

Gambar 3: Lapisan kulit

Keterangan gambar:  
 Rambut penutup (1),  
 Kolenkim (2),  
 Epidermis atas (3),  
 Parenkim palisade (4),



### ANOVA

perubahan volume  
 pembengkakan kaki tikus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,894	5	,379	287,643	,000
Within Groups	,016	12	,001		
Total	1,909	17			

Hasil penelitian yang didapatkan dari pemberian ekstrak dengan dosis 50mgkg/BB, 100mgkg/BB, 200mgkg/BB, dan 400mgkg/BB selama 7 hari menunjukkan adanya penurunan volume pembengkakan pada tikus. Namun hasil dari beberapa varian dosis didapatkan hasil rata-rata setiap perlakuan. Perbandingan nilai rata-rata setiap perlakuan yaitu pada dosis 50mgkg/BB dan 100mgkg/BB yang cenderung memiliki nilai rata-rata mendekati kontrol negatif yaitu CMC Na, namun pada dosis 200mgkg/BB sampai dosis 400mgkg/BB nilai rata-rata berubah menuju arah kontrol positif. Adanya perbedaan nilai rata-rata pada setiap kelompok pengujian yang sudah dilakukan Maka akan dilanjutkan dengan menggunakan uji *post hoc tukey* untuk mengetahui variabel mana yang memiliki perbedaan berdasarkan nilai signifikansi  $< 0,005$  yang dianggap signifikan.

### Perubahan volume pembengkakan kaki tikus

Tukey HSD<sup>a</sup>

Dosis EEBK	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Blanko	3	,6433				
EEBK 50/kgBB	3		,9233			
EEBK 100 mg/kgBB	3			,9467		
EEBK 200 mg/kgBB	3				1,1667	
EEBK 400 mg/kgBB	3					1,3333
Stimuno	3					1,6567
Sig.		1,000	,964	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Dari hasil uji *post hock tukey* antara kelompok kontrol negatif, dosis 50mgkg/BB dan dosis 100mgkg/BB memberikan efek namun tidak signifikan dibandingkan dosis 200mgkg/BB dan dosis 400 mgkg/BB yang memberikan nilai rata - rata mendekati kontrol positif Stimuno 25mg.

Penurunan volume pembengkakan kaki tikus diduga karena didalam ekstrak terkandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan glikosida yang terkandung didalam daun sirsak (*Annona mucirata*). Senyawa ini termasuk kedalam golongan polifenol yang selain memiliki fungsi biologis seperti memperbaiki metabolisme glukosa juga sebagai antioksidan dan imunostimulan.

#### 4. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Penggunaan ekstrak pada dosis 400mgkg/BB dapat menurunkan volume pembengkakan kaki tikus dan efektif sebagai imunostimulan. Yang signifikan dapat dilihat dari nilai signifikansi nilai  $p < 0,005$ . Dosis yang disarankan yang digunakan sebagai imunostimulan yaitu dosis tertinggi. Pada dosis tertinggi pada penelitian ini, memiliki efektifitas yang sama dengan kontrol positif yang sudah ada dipasaranyaitu imunstimulan.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Achmad. Et al (2018). senyawa triterpenoid dari tumbuhan sirsak (*annona mucirata*). *Jurnal ITEKIMA*. 3(1): 12-20.
2. Andi emelda. et al (2018) *Journal of Global Pharma Technology* 10 (08): 425-429.
3. Conze et al 2017, Autocrine Production of Interleukin 6 Causes Multidrug Resistance in Breast Cancer Cells, *cancer reasearch*, 61.
4. Hablutzet et al (2019) *Malar J* 18:33
5. Hosseinzade et al (2019) *Frontiers in Immunology* vol 10 -51
6. Hueza et al (2018) *Phytoterapy Research* 33 167-173
7. Kaban, V., & Yusmarlisa, S. (2018). Uji Aktivitas Kandungan Antioksidan Pada Daun Bangun-Bangun (*Plectranthus amboinicus*) Secara Spektrofotometri Ultraviolet-Visible. *JURNAL FARMASIMED (JFM)*, 1(1), 16-20. <https://doi.org/10.35451/jfm.v1i1.90>
8. Kadiyala et al (2018) *Compotion and methods for Immunolomodulation*.
9. Lisa .D. et al (2018) *Human Vacines & Immunotherapeutic* vol 14 no 1 59-66
10. Marbun, R. (2018). Test Of Immunomodulatory Activity of Alcoholic Ekstract Herb Binara (*Artemisia Vulgaris L.*) In Male Rats. *Asian Journal Pharmaceutical and Clinical Research*. 11(1):246
11. Mutiah.R et al . (2017). Anticancer Activity of Sabrang Onion (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr) on Cervical Cancer



- Hela Cell Line Traditional Medicine Journal 22(3)
12. Nurfaat.(2016). Acute Toxicity Extract of Mango Mistletoe (*Dendrophthoe petandra*) to Strain of Swiss Webster Mice. IJPST. Vol.6
13. Ofokansi et al (2018). Journal of Clinical & Celular Immunologis 9:5
14. Ojezele et al (2016). Chemistri International 2 (1) 109b-113b.
15. Osama et al (2019). Journal of applied pharmaceutical science vol 9 (04)
16. Poelman et al (2018) The Journal of Pediatrik vol 195
17. Poelman et al (2019). Orphanet Journal of Rare Disease 14:71.
18. Pulungan, A., Sitepu, D., & Sinaga, D. (2018). Formulation of Ointment of Antibactery Ethanol Extract of Torch Ginger (*Etlingera elatior*) Against Bacteria *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Penelitian Farmasi & Herbal*, 1(1), 1-5. Retrieved from <http://ejournal.delihusada.ac.id/index.php/JPFH/article/view/30>
19. Rahim. Et al (2017). (Immunostimulatory Effect Of Leaf Extract Kasturi (*Mangifera Casturi*) In Mice). 6 (1): 10-19.
20. Sembiring, H.B., Lenny, S., Marpaung, L. (2016) *Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoida dari Daun Benalu Kakao (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.)*
21. Wathoni Nasrul (2016). Mjalah Farmasetika vol 1 No 2.
22. Yulian .M. (2018). The test antioxidant activity) with the DPPH method (1,1-diphenyl-2-pikrildidrazil). Lantanida Journal vol 6 no 2 103-202.
23. Yuswantina. (2016). The Immunomodulator Effect Of Ethanol Extract Of Breadfruit Leaves (*Artocarpus Altilis* (Park) Fosberg) Toward Nonspecific Immune Response On Male Mice Balb/C Strain.



Gambar 2 penginjeksian bakteri *e coli*



Gambar 3 pemberian suspensi CMC Na secara oral sonde (kontrol negatif)



Gambar 4 tikus uji