

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN KEDONDONG (*Spondias pinnata* (L.F) Kurz.) TERHADAP ANTIBODI IgM DAN IgG PADA MENCIT BALB/C YANG DIINDUKSI VAKSIN HEPATITIS B

Maria Ulfah¹, Penni Dwi Royani¹, dan Rita Febrianti Lidya Putra¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim
Jl. Menoreh Tengah X/22, Sampangan, Semarang 50236
Email : mariau_astra@yahoo.com

INTISARI

Antibodi berperan dalam mempertahankan sistem imun tubuh dari berbagai mikroorganisme. Saat tubuh mengalami ketidakseimbangan, tubuh memerlukan suatu senyawa yang dapat meningkatkan antibodi. Senyawa flavonoid, polifenol dan alkaloid dapat meningkatkan antibodi. Ekstrak etanol daun kedondong mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan polifenol. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas imunomodulator ekstrak etanol dalam antibodi IgM dan IgG pada mencit balb/c yang diinduksi vaksin hepatitis B. Ekstrak etanol daun kedondong dimaserasi dengan pelarut etanol 96%. Dosis konsentrasi ekstrak etanol daun kedondong yang digunakan 5, 10 dan 20% secara p.o selama 46 hari dan vaksinasi dilakukan pada hari ke-7, 28 dan 43. Kontrol positif yang digunakan levamisol dengan dosis 0,45mg/20gBB secara p.o. Analisis *Optical Density* (OD) IgM dan IgG pada hari ke 14, 35 dan 46 menggunakan uji statistik *Friedman* dan *Mann Whitney*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kedondong memiliki aktivitas meningkatkan antibodi IgM dan IgG pada konsentrasi 5, 10 dan 20% hari ke 14, 35 dan 46 serta mengandung flavonoid, alkaloid dan polifenol.

Kata kunci : Vaksin Hepatitis B, IgM, IgG, *Optical Density* (OD)

ABSTRACT

Antibodies play a role in maintaining the body's immune system from various microorganism. When the body experiences an imbalance, the body needs a compound that can increase antibodies. Flavonoids, polyphenols and alkaloids can increase antibodies. Flavonoids, polyphenols and alkaloids can increase antibodies. Ethanol extract of kedondong leaves contains compounds of flavonoid, alkaloids, and polyphenols. The purpose of this study was to determine the immunomodulatory activity of ethanol extract in IgM and IgG antibodies in balb /c mice induced by hepatitis B vaccine. Ethanol extract of kedondong leaves was macerated with 96% ethanol. The doses of the concentration of ethanol extract of kedondong leaves used were 5, 10 and 20% p.o for 46 days and vaccination was carried out on the 7th, 28th and 43rd days. Positive control was used with levamisole at a dose of 0.45mg / 20gBB by p.o. Analysis of Optical Density (OD) IgM and IgG on days 14, 35 and 46 using *Friedman* and *Mann Whitney* statistical tests. The results showed that the ethanol extract of kedondong leaves had activity of increasing IgM and IgG antibodies at concentrations of 5, 10 and 20% on days 14, 35 and 46 and contained flavonoids, alkaloids and polyphenols.

Keywords: Hepatitis B Vaccine, IgM, IgG, *Optical Density* (OD)

Corresponding author:
Maria Ulfah
Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim
Jl. Menoreh Tengah X/22, Sampangan, Semarang 50236
Email : mariau_astra@yahoo.com

PENDAHULUAN

Antibodi berperan dalam mempertahankan sistem imun tubuh dari berbagai mikroorganisme. Sistem pertahanan tubuh terdiri dari sistem imun spesifik dan non spesifik. Sistem imun spesifik salah satunya adalah sel limfosit T dan sel limfosit B. Sel limfosit B yang tersensitasi oleh antigen dapat memproduksi antibodi (Kresno, 2010).

Antibodi yang diproduksi pertama kali adalah IgM (Imunoglobulin M). Antibodi IgM berperan sebagai respon awal terhadap masuknya antigen ke dalam tubuh. Kadar antibodi IgM akan lebih meningkat pada sensitasi antigen yang kedua, hal ini disebabkan sel B yang memproduksi antibodi membentuk sel memori sehingga mengenal langsung antigen tersebut. Antibodi IgG merupakan antibodi terbanyak yang ada dalam tubuh sekitar 70-75%. IgG berperan sebagai pertahanan tubuh terhadap bakteri, virus, parasit dan berbagai jamur (Abbas *et al.*, 2012; Baratawidjaja, 2014).

Senyawa – senyawa kimia yang terkandung di bahan alam seperti polisakarida, andrographolide, alkaloid, flavonoid dan polifenol dapat meningkatkan aktivitas respon imun. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas imunomodulator apabila senyawa tersebut dapat meningkatkan respon imun yang sudah teraktifkan oleh antigen.

Senyawa flavonoid dan alkaloid adalah senyawa kimia yang berpotensi dapat meningkatkan IgM dan IgG (Carmelita, 2016; Effendi dan Widiastuti, 2014; Simorangkir dkk, 2014). Kandungan kimia yang terkandung di dalam daun, kulit batang dan kulit akar kedondong yaitu flavonoid, alkaloid dan polienol (Hutapea, 1994 dan Muntari, 2012).

Vaksin merupakan salah satu antigen berasal dari bakteri atau virus yang telah dilemahkan. Vaksin hepatitis B mengandung protein selubung dari hepatitis B yang diproduksi melalui rekayasa genetika (Herawati, 2015).

Pemakaian vaksin hepatitis B berperan sebagai antigen yang dapat merangsang respon imun humoral melalui produksi antibodi yang memberikan imunitas (Radji, 2009). Vaksin hepatitis B dapat menginduksi antibodi menjadi lebih aktif dari sebelumnya (Rahayu, 2015).

Penelitian tentang uji aktivitas imunomodulator ekstrak etanol daun kedondong (*Spondias pinnata* (L.F.) Kurz.) terhadap antibodi IgM dan IgG pada mencit balb/c yang diinduksi vaksin hepatitis B belum pernah dilakukan, sehingga harapannya penelitian ini dapat menambah bukti ilmiah mengenai manfaat daun kedondong terhadap sistem imun.

METODE PENELITIAN

Bahan

Daun kedondong dari Gunung Pati Semarang, mencit balb/c umur \pm 2bulan, levamisol (Askamex), etanol 96%, vaksin Hepatitis B (Engerix-B®), PBS, PBST₂₀, serum yang telah diencerkan (1:4 dalam PBS), isotype spesifik IgG dan IgM, Antibodi IgG substrat TMB, 2 N H₂SO₄, larutan besi (III) klorida 10%, HCl 2%, reagen Mayer, reagen Dragendorff, methanol, logam Mg dan HCl pekat.

Alat

Ependrof tube, mikro plate 96, mikro pipet, blue tip, yellow tip, ELISA Reader, alat-alat gelas.

Jalannya Penelitian

1. Pengumpulan dan Identifikasi Bahan

Daun Kedondong diperoleh dari Gunung Pati, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Daun Kedondong dikeringkan dengan oven pada suhu 50⁰ C. Simplisia kering dibuat serbuk kemudian diayak dengan ayakan ukuran 25 mesh serta diukur kadar airnya dengan alat *moisture balance*. Serbuk daun kedondong disimpan dalam wadah kaca tertutup rapat dengan silika gel didalamnya agar tahan lama.

2. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kedondong

Pembuatan ekstrak etanol daun kedondong dilakukan dengan metode maserasi menggunakan cairan penyari etanol 96%. Cairan penyari yang digunakan untuk ekstraksi dengan perbandingan 1:10 artinya 1 bagian serbuk simplisia dilarutkan dalam 10 bagian pelarut. Maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu <50°C sampai diperoleh ekstrak kental etanol. Setelah didapatkan ekstrak etanol simplisia, rendemen dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Randemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang didapat}}{\text{berat serbuk yang diekstraksi}} \times 100\%$$

3. Uji Kandungan Kimia

Senyawa polifenol dengan cara larutan ekstrak uji sebanyak 1 ml direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 10%, jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya polifenol. Senyawa alkaloid dengan cara ekstrak daun kedondong dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid. Senyawa flavonoid dengan cara ekstrak daun kedondong dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan. Setelah itu, ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid (Harborne, 1987).

4. Persiapan Hewan Uji dan Pengambilan Sampel Uji

Hewan uji sebanyak 24 mencit Balb/c yang berumur sekitar 8 minggu dengan berat kira-kira 20 gram diadaptasi selama 7 hari. Hewan uji diberi perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol daun kedondong sesuai dengan kelompok masing-masing sampai 46 hari. Pada hari ke-7 hewan uji di induksi vaksin hepatitis B dengan dosis 0.052 mcg/20gBB secara intraperitoneal kemudian induksi kedua dilakukan pada hari ke-28 dengan dosis dan cara yang sama, induksi booster dilakukan pada hari ke-43 dengan cara : 1/10 dosis total antigen diinjeksi secara i.p volume 0,3 ml dalam PBS. Tunggu 45 menit, 1/10 dosis total, dengan cara dan volume sama, pada titik yang berbeda. Tunggu 45 menit, 2/10 dosis total dengan cara dan volume yang sama, pada titik yang sama. Tunggu 30 menit, 6/10 dosis total secara i.v. Pada hari ke-14 hewan uji diambil darahnya dari vena plexus retroorbitalis. Pengambilan darah kedua dilakukan pada hari ke-35 (7 hari setelah induksi kedua) dan pengambilan darah setelah induksi booster dilakukan pada hari ke-46.

5. Uji Aktivitas IgM dan IgG dengan metode ELISA tak langsung

Mikroplat 96 dilapisi dengan hepatitis B sebagai antigen kadar 2 µg/mL dalam 18 µl PBS per sumuran, diinkubasi semalam pada suhu 4°C. Masing-masing sumuran, cuci 3x dengan 450 µL 0,05 % PBST₂₀. Blok dengan BSA 0,5% dalam PBS sebanyak 100 µl per sumuran, diinkubasikan selama 1 jam pada 37°C. Ditambahkan 100 µL serum yang telah diencerkan (1:4 dalam PBS). Diinkubasi 2 jam pada suhu kamar. Cuci 3x dengan 450 µL 0,05% PBST₂₀. Ditambahkan 100 µL masing-masing isotype spesifik IgM dan IgG, lalu diinkubasi 30 menit pada suhu kamar. Cuci 3x dengan 450 µL 0,05% PBST₂₀ dan tambahkan 100 µL Antibodi IgM dan IgG 100 µL masing-masing sumuran yang telah diencerkan (1 : 5000), diinkubasi 15 menit pada suhu kamar. Cuci 3x dengan 300 µL 0,05% PBST₂₀. Dimasukkan 100 µL substrat TMB, lalu inkubasi 15 menit pada suhu kamar. Reaksi dihentikan dengan penambahan 100 µl 2 N H₂SO₄. Hasil dibaca dengan mikroplat reader pada panjang gelombang 450 nm.

ANALISIS DATA

Uji Aktivitas IgM dan IgG dengan metode ELISA Reader

Data yang didapat berupa *Optical Density* (OD) yang akan dianalisis dengan program SPSS 16 for windows menggunakan perhitungan statistik *Friedman* dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dengan taraf kepercayaan 95%.

Uji Kandungan Kimia

Identifikasi dilakukan dengan menambahkan reagen kedalam larutan uji. Hasil reaksi dibandingkan dengan kontrol untuk melihat terjadinya perubahan warna atau terjadinya endapan.

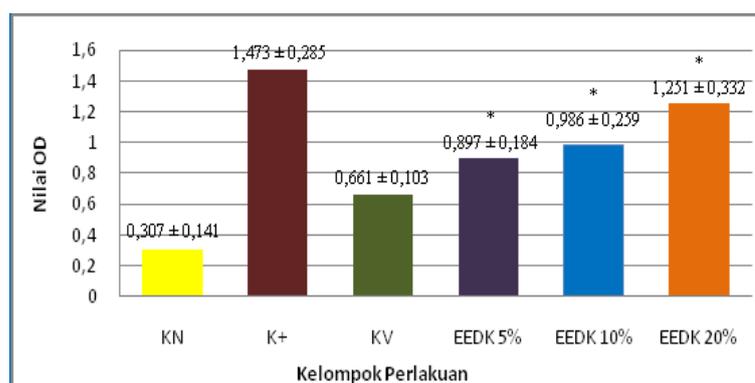
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan galur Balb/c usia 8 minggu. Mencit yang digunakan adalah mencit galur Balb/c karena galur ini lebih sensitif terhadap rangsangan antigen serta responsif terhadap rangsangan eksogen. Mencit yang dipilih berusia 8 minggu karena sistem organ terbentuk dengan baik (Olivera dkk., 2010).

Uji aktivitas imunomodulator terhadap antibodi IgM dan IgG dalam serum mencit balb/c menggunakan metode ELISA tak langsung. Prinsip dari metode ELISA tak langsung adalah penggunaan enzim untuk mendeteksi ikatan antara antigen dengan antibodi. Enzim akan merubah

substrat yang tidak berwarna menjadi biru dan setelah ditambahkan H_2SO_4 menimbulkan warna kuning, perubahan warna menunjukkan adanya ikatan antara antigen dan antibodi. Intensitas warna yang terjadi diukur dan hasilnya dinyatakan dalam *optical density* yang menunjukkan nilai antibodi IgG. Semakin tinggi intensitas warna maka antibodi yang dihasilkan semakin banyak (Crowther, 1995).

Pengambilan serum dilakukan pada hari ke 14, 35 dan 46 melalui plexus retroorbitalis sebanyak $\pm 0,5$ ml. Pengambilan serum pertama kali dapat menimbulkan respon imun primer yang ditandai dengan munculnya IgM sehingga produksi IgM lebih besar dari IgG. Pengambilan serum kedua akan menimbulkan respon imun sekunder yang ditandai dengan meningkatnya produksi IgG sehingga IgG lebih banyak dari IgM. Pengambilan serum ketiga merangsang respon imun untuk membentuk antibodi lebih cepat dan banyak dibanding respon imun sekunder (Sasmito, 2006; Sheehan, 1997).



Keterangan:

KN : Kontrol normal

K+ : Kontrol positif

KV : Kontrol dengan vaksin

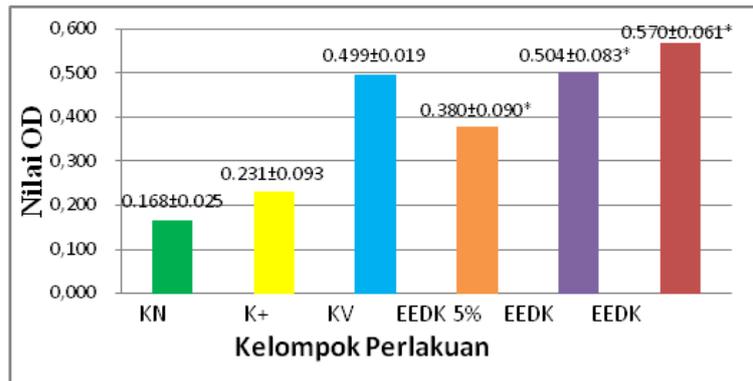
EEDK : Ekstrak etanol daun kedondong

*Hasil uji *Mann-Whitney* berbeda bermakna dengan kontrol vaksin $p < 0,05$

Gambar 1. Grafik Mean \pm SD Nilai OD Berbagai Konsentrasi EEDK pada Pengambilan Serum Hari Ke-14

Hasil uji *Mann Withney* terhadap nilai OD antar kelompok perlakuan pada pengambilan serum hari ke-14 dapat dilihat pada gambar 1. Berdasarkan gambar 1 terlihat bahwa perlakuan EEDK konsentrasi 5%, 10% dan 20% menunjukkan peningkatan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol normal dan kontrol vaksin. Peningkatan respon imun pada kelompok sampel uji ditunjukkan mulai dari konsentrasi 5% jika dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Aktivitas tertinggi peningkatan respon imun diperoleh pada konsentrasi 20%.

Hasil analisis EEDK pada konsentrasi 5% menunjukkan perbedaan bermakna bila dibandingkan dengan konsentrasi 10% dan 20%. Demikian pula untuk EEDK konsentrasi 10% menunjukkan perbedaan bermakna bila dibandingkan dengan konsentrasi 20%, sehingga dapat dikatakan bahwa EEDK konsentrasi 5%, 10% dan 20% pada hari ke-14 memiliki aktivitas imunomodulator yang setara dalam meningkatkan antibodi IgM.



Keterangan:

KN : Kontrol normal

K+ : Kontrol positif

KV : kontrol dengan vaksin

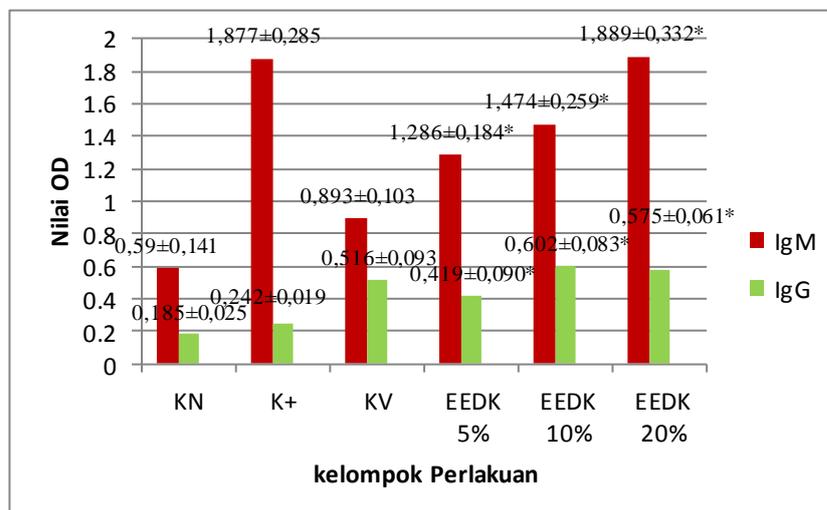
EEDK : Ekstrak etanol daun kedondong

*Hasil uji *Mann-Whitney* berbeda bermakna dengan kontrol vaksin $p < 0,05$

Gambar 2. Grafik Mean ± SD Nilai OD Berbagai Konsentrasi EEDK pada Pengambilan Serum Hari Ke-35

Berdasarkan gambar 2, analisis secara statistik terhadap nilai OD didapatkan hasil bahwa konsentrasi 5%, 10% dan 20% menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok dengan vaksin, sehingga pada semua kelompok konsentrasi dikatakan memiliki aktivitas imunomodulator.

Hasil analisis EEDK konsentrasi 5% menunjukkan ada perbedaan bermakna apabila dibandingkan dengan konsentrasi 10% dan 20%. Hasil analisis EEDK konsentrasi 10% menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna dibandingkan dengan konsentrasi 20%. Sehingga dapat dikatakan bahwa konsentrasi 5% memiliki aktivitas imunomodulator yang berbeda dengan konsentrasi 10%, 20% dan konsentrasi 10% memiliki aktivitas imunomodulator yang setara dengan konsentrasi 20%.



Keterangan:

KN : Kontrol normal

K+ : Kontrol positif

KV : kontrol dengan vaksin

EEDK : Ekstrak etanol daun kedondong

*Hasil uji *Mann-Whitney* berbeda bermakna dengan kontrol vaksin $p < 0,05$

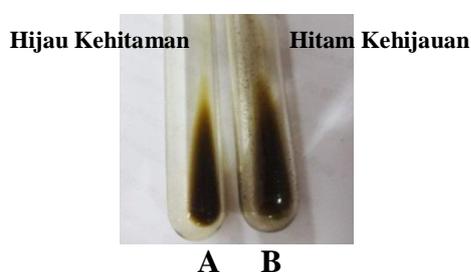
Gambar 3. Grafik Mean ± SD Nilai OD Berbagai Konsentrasi EEDK pada Pengambilan Serum Hari Ke-46

Berdasarkan gambar 3 analisis secara statistik terhadap nilai OD didapatkan hasil bahwa konsentrasi 5%, 10% dan 20% menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok dengan vaksin, sehingga pada semua kelompok konsentrasi dikatakan memiliki aktivitas imunomodulator.

Peningkatan IgM dan IgG melalui senyawa flavonoid yang berasal dari EEDK diduga karena adanya aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Sel limfosit pada imunitas humoral akan berinteraksi dengan sel B yang akan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi dan membentuk sel memori. Antibodi yang dapat dihasilkan oleh sel B antara lain IgM, IgG, IgA, IgE dan IgD (Baratawidjaja dan Rengganis, 2014).

Uji Kandungan Kimia

Uji kandungan kimia dalam ekstrak etanol daun kedondong digunakan untuk mengetahui adanya golongan senyawa polifenol, alkaloid dan flavonoid. Pengujian polifenol dilakukan dengan penambahan pereaksi FeCl_3 . Hasil uji polifenol dengan menggunakan uji warna menghasilkan larutan warna hitam kehijauan, yang menandakan hasil positif. Hal ini menandakan bahwa ekstrak daun kedondong mengandung polifenol (Gambar 5).



Keterangan : A = larutan ekstrak sebelum ditambahkan pereaksi
B = larutan ekstrak setelah ditambahkan FeCl_3

Gambar 5. Hasil Uji Polifenol

Hasil uji alkaloid bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa golongan alkaloid dengan menggunakan pereaksi warna Dragendorff dan Mayer. Hasil uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff menghasilkan larutan dengan warna orange yang apabila dibiarkan beberapa saat akan menghasilkan endapan berwarna orange/jingga pada dasar tabung dan hasil tersebut menandakan bahwa uji alkaloid dengan pereaksi dragendroff menunjukkan hasil positif.

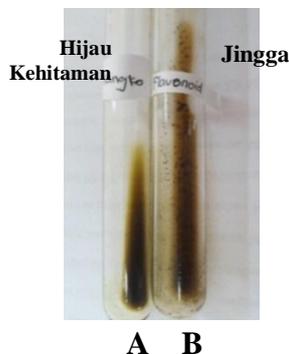


Keterangan : A = larutan ekstrak sebelum ditambahkan pereaksi
B = larutan ekstrak setelah ditambahkan pereaksi Dragendroff & Mayer

Gambar 6. Hasil Uji Alkaloid dengan Pereaksi Dragendroff dan Pereaksi Mayer

Hasil uji alkaloid dengan pereaksi dragendroff dapat dilihat pada gambar 6. Hasil uji alkaloid dengan pereaksi mayer menghasilkan larutan dengan hijau ke orange-orangan. Pengujian alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam (Harborne, 1996). Hal ini menunjukkan hasil yang negatif pada uji alkaloid dengan pereaksi mayer (Gambar 6).

Uji flavonoid dilakukan dengan menggunakan serbuk Mg dan HCl pekat. Hasil uji flavonoid (Gambar 7) dengan menggunakan uji warna menghasilkan larutan warna jingga, yang menandakan hasil positif. Perubahan warna dapat terjadi karena logam Mg dan HCl pada pengujian berfungsi mereduksi inti benzopiron yang ada pada flavonoid, sehingga terbentuk warna jingga (Illing dkk, 2017).



Keterangan : A = larutan ekstrak sebelum ditambahkan pereaksi
B = larutan ekstrak setelah ditambahkan logam Mg dan HCl

Gambar 7. Hasil Uji Flavonoid

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kedondong mampu meningkatkan titer antibodi IgM dan IgG mencit galur Balb/c pada konsentrasi 5%, 10% dan 20%. Selain itu ekstrak etanol daun kedondong mengandung senyawa kimia antara lain flavonoid, alkaloid dan polifenol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Allah SWT., atas limpahan rahmat serta karunianya, terimakasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam penelitian serta penyusunan jurnal ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H. and Pillai, S., 2012. *Cellular and Molecular Immunology*, 7th ed., Elsevier Saunders.
- Baratawidjaja, K.G., dan Rengganis, I., 2014, *Imunologi Dasar*, Edisi ke-11, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Carmelita, A. B., 2016, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*(L.) Merr.) Secara Oral pada Mencit Balb/c terhadap Pencegahan Penurunan Diameter Germinla Center pada Kelenjar Getah Bening serta Kadar IgG serum, *Jurnal Biosains Pascasarjana*.
- Crowther JR. 2001. *The ELISA Guidebook*. New Jersey : Humana Press.
- Effendi, N., dan Widiastuti, H., 2014, Identifikasi Aktivitas Immunoglobulin M (IgM) Ekstrak Etanolik Daun Ciplukan (*Physalis minima* Linn.) Pada Mencit, *Jurnal Kesehatan* Vol. VII (2).
- Harborne, J. B., 1996, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Imam Sudiro, edisi II, ITB, Bandung.
- Herawati, N., 2015, *Pichia Pastoris : Yeast Penghasil Protein Terapeutik dan Vaksin Manusia*, *Bio Trends* 1(1).
- Hutapea, J.R., 1994, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia III*, Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Illing I., Wulan S., dan Erfiana. 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengen. *Jurnal Dinamika*. Fakultas Sains. Universitas Cokroaminoto Palopo.
- Kresno, S.B., 2010, *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 4, 450.

- Muntari Zuli. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Kedondong (*Spondias pinnata*) Terhadap *Streptococcus mutans* Dan *Shigella sonnei*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Oliveira, S.C., Macedo, G.C., de Almeida, L.A., de Oliveira, F.S., and Onate, A., 2010, Recent Advances in Understanding Immunity Agent Brucellous: Application of Vaccine Development, *The Open Veterinary Science Journal*, Vol 4, 102-108.
- Radji, M., 2009, Vaksin DNA: Vaksin Generasi Keempat, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 6 (1), 28-37.
- Rahayu, M.P., 2015, Aktivitas Imunomodulator Fraksi n-Heksan dari HerbaSambiloto (*Andrographis paniculata*, (Burm.F) Nees) terhadap Mencit yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B dengan Parameter IgG, *Jurnal Pharmascience*, 2.
- Rahayu, M.P., 2015, Aktivitas Imunomodulator Fraksi n-Heksan dari HerbaSambiloto (*Andrographis paniculata*, (Burm.F) Nees) terhadap Mencit yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B dengan Parameter IgG, *Jurnal Pharmascience*, 2.
- Sasmito, E., Nunung, Y., dan Soegihardjo, C.J., 2006, *Mekanisme Imunomodulator Ekstrak Buah Mengkudu (Morinda citrifolia, L.) Pada Mencit Balb/c Yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B*, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Sheehan, C., 1997, *Clinical Immunology Principles and laboratory Diagnosis*, 2nd, Lippicott Company, Philadelphia, 3-5.
- Simorangkir, H., Sinaga, E., Riwayati., dan Panggabean, F.M.T., 2014, Potensi Bioaktif Imunostimulan Alami dari Isolate Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Ranti Hitam (*Solanum blumei* Ness ex Blume), dalam *Prosiding Seminar Nasional Biologi Dan Pembelajarannya*, Jurusan Biologi MIPA Universitas Negeri Medan, Medan.