

**AKTIVITAS IMUNOMODULATOR EKSTRAK ETANOL SPONS  
*Callyspongia* sp. TERHADAP FAGOSITOSIS MAKROFAG PADA  
MENCIT JANTAN *BALB/C*.**

**Muhammad Ilyas Y.<sup>1,2</sup>, Asriullah Jabbar<sup>1</sup>, Mentarri Bafadal<sup>1</sup>,  
Muhammad Hajrul Malaka<sup>1</sup>, Firdayanti<sup>2</sup>, I. Sahidin<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo, Kendari

<sup>2</sup>Politeknik Bina Husada Kendari

<sup>1</sup>Email: [ilyasyusufmuhammad.apt@gmail.com](mailto:ilyasyusufmuhammad.apt@gmail.com)

\*Email: [sahidin02@UHO.ac.id](mailto:sahidin02@UHO.ac.id)

Artikel diterima: 5 September 2019; Disetujui: 28 Februari 2020

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v5i1.377>

**ABSTRAK**

Spons *Callyspongia* sp. mengandung senyawa yang berperan sebagai agen imunomodulator, salah satunya flavonoid. Flavonoid berpotensi sebagai imunostimulan dengan meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas imunomodulator ekstrak etanol spons *Callyspongia* sp. terhadap fagositosis makrofag pada mencit jantan galur *Balb/C*. Hewan uji mencit dibagi ke dalam 6 kelompok. Kelompok pertama diberikan ekstrak spons *Callyspongia* sp. 100 mg/kgBB, kelompok kedua diberikan ekstrak spons *Callyspongia* sp. 200 mg/kgBB, kelompok ketiga diberikan ekstrak etanol spons *Callyspongia* sp. 300 mg/kgBB, kelompok keempat diberikan ekstrak spons *Callyspongia* sp. 400 mg/kgBB, kelompok kontrol positif diberikan Stimuno<sup>®</sup> 0,13 mg/gBB dan kelompok kontrol negatif diberikan Na-CMC 0,5%. Sediaan diberikan secara peroral pada hari pertama sampai ketujuh. Pada hari kedelapan masing-masing mencit diinjeksikan bakteri *Staphylococcus aureus* (SA) secara intraperitoneal. Aktivitas sel makrofag dihitung dari apusan cairan peritoneum mencit dengan menghitung persentase makrofag yang melakukan fagositosis dari 100 sel yang diamati. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis statistik *one way Anova* dan *uji post hoc Tukey*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol spons *Callyspongia* sp. pada dosis 300 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB memiliki aktivitas sebagai imunoamodulator berdasarkan hasil uji statistik *post hoc Tukey* ( $P > 0,05$ ) yang menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna terhadap kontrol positif (Stimuno<sup>®</sup>) dalam meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag.

**Kata kunci:** Spons *Callyspongia* sp., Makrofag, Fagositosis, Imunomodulator

**ABSTRACT**

*Sponge Callyspongia sp. has compounds that act as immunomodulatory agents, one of which is flavonoids. Flavonoids have the potential to be immunostimulants by increasing the phagocytic activity of macrophages. This study was experimental with a post test only control group design method. This study used 24 micemalstrain Balb /c with a body weight of 20-30 grams divided*

into 6 groups. The first group get extracts of sponge *Callyspongia* sp. 100 mg/kgBW, second group get the extract of sponge *Callyspongia* sp. 200 mg/kgBW, third group get extracts of sponge *Callyspongia* sp. 300 mg/kgBW, fourth group get the extract of sponge *Callyspongia* sp. 400 mg/kgBW, positive control group was given Stimuno<sup>®</sup> 0,13 mg/kgBW and the negative control group get Na-CMC 0.5%. A test given in orally preparations on the first day until the seven day. On the eighth day of each of the mice are injected bacteria *Staphylococcus aureus* (SA) by intraperitoneal. The activity of macrophage cells from murine peritoneal fluids sweep by calculating the percentage of macrophages that does phagocytosis of 100 cells are observed. The data obtained were then analyzed by one way Anova statistics and test post hoc Tukey's. As result, the are that ethanol extracts of sponge *Callyspongia* sp. at doses of 300 mg/kgBW and 400 mg/kgBW have potential as immunomodulator with based on results of statistical tests post hoc Tukey ( $P > 0.05$ ) showed no meaningful difference against the positive control (Stimuno<sup>®</sup>) wich improving the activity of the cells of the macrophage phagocytosis.

**Keywords:** *Spons Callyspongia* sp., Makrofag, Phagocytosis, Imunomodulator

## PENDAHULUAN

Angka kejadian penyakit infeksi mengalami peningkatan dalam beberapa tahun terakhir, dan merupakan salah satu penyebab tingginya angka kematian di beberapa negara berkembang termasuk di Indonesia (Heria dkk., 2017; Zumrotul, 2013). Infeksi yang disebabkan oleh virus, bakteri, protozoa, cacing, dan jamur parasitik yang masuk ke dalam tubuh atau permukaan tubuh merupakan alasan keberadaan sistem imun, sehingga setiap mekanisme yang dapat mengurangi infeksi tersebut sangat berharga dalam mempertahankan

hidup melalui imunitas (Sukmayadi dkk., 2014).

Sistem imun mengacu pada kemampuan tubuh menahan atau mengeliminasi benda asing atau sel abnormal yang berpotensi berbahaya (Agustina, 2015). Sistem imun dapat dibagi menjadi sistem imun non spesifik dan spesifik (Izzati dkk., 2014). Salah satu upaya yang dilakukan sistem imun nonspesifik dalam mempertahankan diri terhadap masuknya antigen yaitu dengan cara menghancurkan antigen melalui proses fagositosis (Marusin dan Chairul, 2012).

Salah satu sel imunitas yang berperan dalam melakukan

proses fagositosis adalah makrofag (Kusmardi, 2007). Makrofag merupakan efektor utama pada respon imun seluler. Sebagai agen fagosit, makrofag bertanggung jawab dalam memusnahkan sel yang terinfeksi patogen intraseluler dimana aktivitas fagositosis makrofag dapat ditingkatkan dengan zat-zat yang bersifat imunomodulator (Akrom, 2015; Nugroho, 2012).

Obat sintesis yang biasa digunakan di dalam mengembalikan ketidak seimbangan sistem imun seperti obat golongan antiinflamasi nonsteroid, obat-obat immunosupresan, obat-obatan untuk immunostimulan. Obat-obat sintesis ini banyak mengakibatkan efek yang tidak diinginkan. Oleh karena itu diperlukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan aktivitas immunomodulator dari ekstrak maupun hasil isolasi tanaman yang diharapkan memiliki efek samping yang lebih kecil (Sukmayadi dkk., 2014).

Spons adalah salah satu sumber daya alam hayati laut yang sampai saat ini masih belum banyak diketahui dan dimanfaatkan secara optimal (Krisyuninda, 2012). Salah satu famili

spons yang memiliki senyawa dengan bioaktivitas tinggi berasal dari famili *Callyspongiidae* dengan aktivitas bioaktif yang tinggi jika dibandingkan dengan biota laut lainnya (Sari dkk., 2014). Hasil penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Krisyuninda (2012) melakukan isolasi senyawa bioaktif spons *Callyspongia* sp. dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menemukan kandungan senyawa steroid, alkaloid, flavonoid dan terpenoid (Warbung dkk., 2013). Hasil pengujian secara *in vivo* maupun *in vitro* dari metabolit sekunder dari bahan alam seperti flavonoid menunjukkan adanya respon imun atau bersifat immunomodulator (Ilyas, 2019; Wahyuni dkk., 2017 ; Heria dkk., 2017).

Berdasarkan uraian di atas, dimana data ilmiah tentang aktivitas immunomodulator dari spons *Callyspongia* sp. masih sangat terbatas, sehingga pentingnya melakukan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas immunomodulator ekstrak etanol spons *Callyspongia* sp. terhadap fagositosis makrofag pada mencit jantan galur *Balb/c*.

## **METODE PENELITIAN**

Jenis penelitian ini merupakan penelitian *Experimental* dengan rancangan *The Randomized Posttest Only Control Group Design*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo. Pelaksanaan penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan LPPM Universitas Halu Oleo melalui terbitnya Ethical Clearance (EC) Nomor : 1363/UN29.20/PPM/2018.

### **Pengambilan dan Preparasi Sampel**

Sampel spons *Callyspongia* sp. sebanyak 2,8 kg diperoleh dari perairan Kecamatan Soropia, Kabupaten Konawe, Provinsi Sulawesi Tenggara. Pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan pisau dan *cutter* dengan peralatan selam SCUBA (*Self Contained Underwater Breathing Apparatus*). Sampel spons dikumpulkan di dalam *box ice*, lalu dilakukan sortasi basah, dibersihkan dari hewan laut yang hidup di dalam spons dengan cara dicuci dengan air mengalir, kemudian dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil, kemudian

dilanjutkan dengan melakukan proses ekstraksi.

### **Skrining Kandungan Senyawa Kimia**

Komponen yang terdapat dalam spons *Callyspongia* sp. dianalisis golongan senyawa dengan reaksi warna menggunakan pereaksi warna terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Skrining fitokimia pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terdapat di dalam ekstrak etanol spons *Callyspongia* sp.

### **Uji Aktivitas Imunomodulator dengan Fagositosis Makrofag**

Perlakuan hewan uji dilakukan setiap 1 hari sekali selama 7 hari secara peroral sesuai dengan volume pemberian. Kelompok I, mencit diberikan ekstrak dosis 100 mg/kgBB. Kelompok II, mencit diberikan ekstrak dosis 200 mg/kgBB. Kelompok III, mencit diberikan ekstrak dosis 300 mg/kgBB. Kelompok IV, mencit diberikan ekstrak dosis 400 mg/kgBB, kelompok V sebagai kontrol positif diberikan stimuno<sup>®</sup> yang mengandung ekstrak meniran komersial dosis 0,13

mg/kgBB dan kelompok VI sebagai kontrol negatif yang diberikan Na-CMC 0,5%. Pada hari ke delapan setiap mencit diinfeksi dengan 0,5 mL suspensi bakteri SA secara intraperitoneal, dibiarkan selama satu jam. Mencit dianestesi dengan eter lalu dibedah perutnya dengan menggunakan gunting bedah dan pinset steril. Jika ditemukan cairan peritoneum dalam jumlah sedikit pada perut, maka ditambahkan larutan *Phosphat buffered saline* (PBS) pH 7,8 steril sebanyak 1-2 mL, digoyang-goyangkan secara perlahan kemudian diambil cairan peritoneum dengan spuit 1 cc. Cairan peritoneal dipulas pada gelas obyek dan difiksasi dengan metanol selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan pewarnaan Giemsa 10%, didiamkan 20 menit, dibilas dengan air mengalir. Setelah sediaan kering, dilihat di bawah mikroskop menggunakan minyak emersi dengan perbesaran (10x–1000x) (Nugroho, 2012).

#### **Perhitungan Aktivitas Fagositosis**

Aktivitas imunomodulator ditentukan dengan menghitung persen aktivitas fagositosis sel makrofag peritonium mencit. Nilai persen

aktivitas fagositosis adalah persentase sel makrofag yang aktif melakukan proses fagositosis di antara 100 sel makrofag (Marusin dan Chairul, 2012).

#### **Analisis Data**

Metode analisis data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode *Analysis of Variance* (ANOVA) *one-way* dengan syarat terdistribusi normal, taraf kepercayaan 95% dan tingkat signifikansi (tingkat kesalahan 5% ( $\alpha = 0,05$ )). Analisis data dilanjutkan dengan analisis *post hoc* Tukey menggunakan aplikasi *statistical product and service solution* (SPSS) versi 22.0.

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Determinasi spons *Callyspongia* sp. dilakukan dengan tujuan untuk menghindari kemungkinan terjadinya kesalahan dalam pengambilan sampel yang akan digunakan pada uji aktivitas imunomodulator. Hasil determinasi di Laboratorium Perikanan menunjukkan bahwa spons yang diteliti adalah spons jenis *Callyspongia* sp.

### Skrining Kandungan Senyawa Kimia

Komponen yang terdapat dalam spons *Callyspongia* sp. dianalisis golongan senyawa dengan uji tabung

menggunakan beberapa pereaksi untuk golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Hasil skrining fitokimia disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Skrining Fitokimia Spons *Callyspongia* sp.

No	Pengujian	Hasil	Keterangan	Pustaka
1	Alkaloid	+	Terbentuk endapan jingga	
2	Flavonoid	+	Terjadi perubahan warna menjadi merah	
3	Saponin	-	Tidak terbentuk busa yang stabil.	Depkes RI, 2000
4	Tanin	+	Terbentuk warna hijau kehitaman	
5	Terpenoid	+	Perubahan warna menjadi violet	

### Aktivitas Imunomodulator

Pengujian aktivitas imunomodulator pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas imunomodulator ekstrak etanol spons *Callyspongia* sp. terhadap peningkatan aktivitas fagositosis makrofag pada mencit jantan yang diinfeksi dengan bakteri *S. aureus*.

Ekstrak etanol spons *Callyspongia* sp. diujikan dengan variasi dosis 100 mg/kgBB, dosis 200 mg/kgBB, dosis 300 mg/kgBB, dan dosis 400 mg/kgBB. Pemilihan variasi dosis ini didasarkan pada uji pendahuluan yang telah dilakukan dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB. Berdasarkan uji pendahuluan tersebut

dosis 200 mg/kgBB menunjukkan adanya peningkatan aktivitas fagositosis makrofag pada mencit jantan galur *Balb/C* yang diinduksi dengan bakteri *S. aureus* namun masih berbeda jauh dengan kontrol positif yang digunakan. Sehingga variasi dosis yang digunakan pada penelitian ini dimulai dari dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB untuk mengetahui dosis efektif dari ekstrak etanol spons *Callyspongia* sp. sebagai imunomodulator. Sebagai kontrol positif digunakan stimuno<sup>®</sup> yang mengandung ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.). Meniran adalah tanaman yang mempunyai aktivitas imunomodulator, yang

membantu tubuh untuk mengoptimalkan sistem imun yang berperan dalam pertahanan tubuh (Intan dkk., 2016).

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan galur *Balb/C* sebanyak 24 ekor dibagi menjadi 6 kelompok. Dengan pertimbangan fisiologis yang mirip dengan manusia, mudah diperlakukan, sistem imun mencit jantan tidak dipengaruhi oleh hormon esterogen seperti halnya pada mencit betina (Rahman, 2016) diduga estrogen mempengaruhi fungsi enzim-enzim yang berfungsi membantu terbentuknya bahan-bahan yang bersifat oksidatif kuat yang membantu proses fagositosis di dalam makrofag, sehingga dapat menurunkan aktivitas fagositosisnya (Rasyid, 2008).

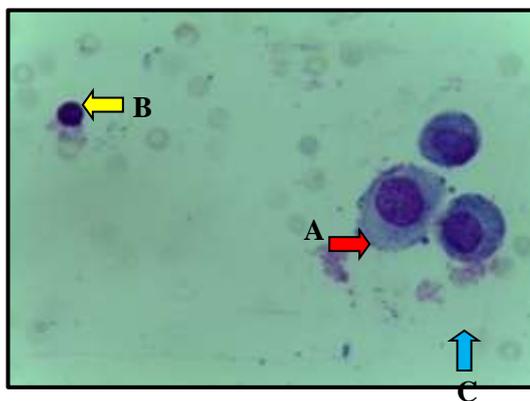
Ekstrak diberikan selama 7 hari berturut-turut secara per oral sebanyak satu kali sehari dengan tujuan untuk menstimulasi sistem imun dari hewan uji. Pada hari kedelapan setiap mencit diinfeksi dengan 0,5 mL suspensi bakteri *S. aureus* secara intraperitoneal

sebelum dilakukan pembedahan (Adriani dan Lasti, 2014).

Respon imun akan terjadi sebagai akibat adanya invasi dari bakteri yaitu *S. aureus* sebagai antigen ketika masuk ke dalam tubuh. Respons imun yang timbul diawali oleh meningkatnya sel fagosit ke arah sumber infeksi. Sel fagosit seperti makrofag maupun neutrofil akan bergerak ke arah sumber rangsangan, selanjutnya memfagosit sel yang dianggap asing tersebut. Proses fagositosis di dalam makrofag dilakukan oleh berbagai enzim dan yang paling dominan adalah lisosim. Hasil fagositosis sel asing tersebut akan berupa fragmen protein yang selanjutnya disajikan ke sel T untuk proses pembentukan antibodi (Besung dkk, 2016).

Pengamatan terhadap aktivitas fagositosis makrofag mencit diamati melalui pengamatan pada preparat apus tipis cairan peritonium mencit yang telah diwarnai dengan pewarna Giemsa. Hasil dari pewarnaan Giemsa menunjukkan adanya pewarnaan pada inti sel makrofag yang ditandai dengan perubahan warna menjadi ungu kebiruan.

Pengamatan dilakukan terhadap sel makrofag yang aktif melakukan proses fagositosis dari 100 sel makrofag yang diamati (Marusin dan Chairul, 2012; Wahyuni dkk., 2017). Perbedaan antara makrofag aktif dan tidak aktif dapat dilihat pada Gambar 1 merupakan hasil apusan tipis cairan peritonium mencit yang diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000x.



**Gambar 1.** Apusan tipis cairan peritonium di bawah mikroskop perbesaran 1000x (A) Makrofag aktif, (B) Makrofag tidak aktif, (C) Bentuk inti sel makrofag

Berdasarkan hasil pengamatan preparat apus yang dilakukan di bawah mikroskop, memperlihatkan sel makrofag aktif berbentuk amoeboid (tidak beraturan) dan ukuran inti relatif lebih besarsedangkan sel yang tidak aktif

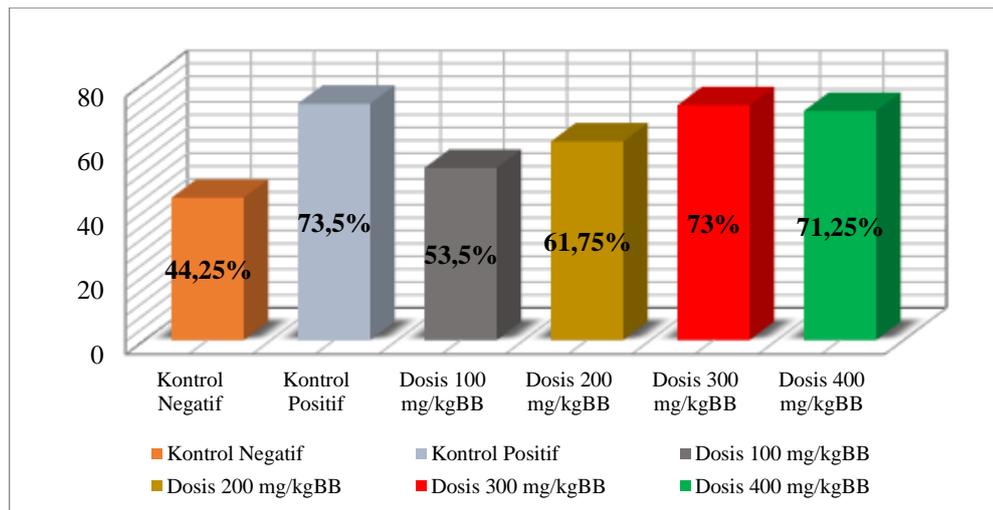
tampak bulat dengan ukuran inti sel lebih kecil (Gambar 1). Hasil ini sesuai dengan pernyataan yang dikemukakan oleh Efendi (2003) bahwa makrofag berbentuk tidak beraturan, inti lonjong atau berbentuk seperti ginjal, mengandung granula azurofilik dan terletak eksentris. Peningkatan aktivitas makrofag ditandai dengan bentuk dan ukuran makrofag yang bertambah besar dengan penjurulan pseudopodi yang sangat bervariasi. Fagosomnya muncul membran yang menjadi lebih berliku-liku, lisosom menjadi lebih banyak, aparat golgi membesar dan retikulum endoplasma kasar berkembang (Bratawidjaja, 2014).

Hasil penghitungan aktivitas fagositosis sel makrofag peritoneum mencit dapat dilihat pada grafik Gambar 2.

Data aktivitas fagositosis makrofag terlebih dahulu dilakukan pengujian normalitas dan uji homogenitas, didapatkan nilai signifikansi ( $p > 0,05$ ) yang berarti bahwa himpunan data yang dimiliki memiliki karakteristik yang sama (homogen) dan terdistribusi normal, sehingga dapat dilanjutkan pengujian

ANOVA satu arah. Berdasarkan hasil uji ANOVA diperoleh nilai  $p < 0,05$  yakni  $p < 0,000$  yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang signifikan

dari aktivitas fagositosis makrofag yang dihasilkan pada keseluruhan kelompok uji, dilanjutkan dengan uji *post hoc* dengan metode Tukey.



**Gambar 2.** Grafik peningkatan aktivitas fagositosis sel makrofag

Hasil uji lanjut (Uji Tukey HSD) menunjukkan bahwa aktivitas fagositosis makrofag pada semua kelompok dosis adalah berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap kelompok kontrol negatif Na. CMC. Sehingga dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol spons *Callyspongia* sp. meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag pada mencit jantan yang diinduksi bakteri *S. aureus*, dimana pada dosis 300 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB memiliki persentase aktivitas fagositosis makrofag yang lebih tinggi.

Peningkatan aktivitas fagositosis makrofag pada pemberian ekstrak etanol spons *Callyspongia* sp. diduga akibat kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya yaitu flavonoid. Hasil ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Wahyuni dkk., (2019) melaporkan bahwa diduga kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak spons *Melophus sarosinorum* dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag sel makrofag mencit *Balb/C*. Penelitian yang dilakukan oleh Ilyas (2019) juga melaporkan bahwa diduga kandungan senyawa

flavonoid dalam ekstrak etanol daun galing dapat meningkatkan imunitas non spesifik melalui peningkatan aktivitas fagositosis pada mencit *Babl/C*. Menurut Makiyah (2016) senyawa flavonoid dapat direspon dengan baik oleh sistem imun tubuh, sehingga memacu peningkatan sekresi sitokin yang dihasilkan oleh sel-sel imunokompeten, antara lain interleukin-1 dan interleukin-6 yang membantu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Senyawa flavonoid dapat bekerja terhadap limfokin (Interferon  $\gamma$ ) yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit melakukan respon fagositosis serta dapat memacu proliferasi limfosit, meningkatkan jumlah sel T, dan meningkatkan sekresi terhadap Interleukin-2, IL-1, IL-12, IL-6, dan TNF- $\alpha$  meningkatkan fagositosis antigen oleh makrofag (Asep, dkk., 2014; Abbas dkk., 2007).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat kesimpulan bahwa ekstrak etanol spons *Callyspongia* sp. memiliki aktivitas imunomodulator

dengan meningkatkan fagositosis sel makrofag mencit jantan, dengan dosis yang efektif 300 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB sebagai imunomodulator.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas A.K. Andrew H. Lichman. Shiv Pillai, 2007, *Cellular and molecular immunology/Abul — 7th ed.*
- Andriani dan Lasti, M.Y., 2014, Identifikasi Keberadaan *Staphylococcus* sp. Pada Santan Kelapa Kemasan yang Beredar di Kota Makassar, **2 (1)**.
- Agustina, W, 2015, Respon Imun Pada Penderita Asma Selama Kehamilan, *Jurnal Ilmu Kesehatan*, **4 (1)**: 58-66.
- Akrom, Widjaya, A., dan Armansyah, T., 2015, Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Meningkatkan Aktivitas Fagositosis Makrofag Mencit Swiss Yang Diinfeksi *Lysteria monocytogenes*, *Jurnal Kedokteran Hewan*, **9(2)**:94-100.
- Asep, E., Sukmayadi, Sri A. Sumiwi, Melisa I. Barliana, Anisa D. Aryanti, 2014, Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol

- Daun Tempuyung (*Sonchus Arvensis* Linn). IJPST, 1 (2).
- Besung, I.N.K., Astawa, N.M., Suata, K., dan Suwiti, N.K., 2016, Hubungan Antara Aktivasi Makrofag Dengan Kadar Interleukin-6 Dan Antibodi Terhadap *Salmonella typhi* Pada Mencit, *Jurnal Kedokteran Hewan*, **10** (1).
- Bratawidjaja, K.G., dan Rengganis, Iris, 2014, *Imunologi Dasar*, Badan Penerbit Fakultas Ilmu Kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jilid VI. Jakarta: Direktorat Jendral POM-Depkes RI.
- Efendi, Z. 2003. *Daya Fagositosis Makrofag pada Jaringan Longgar Tubuh*. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Sumatera Utara.
- Haeria., Dhuha, N.S., Muhammad Ikram Hasbi, M.I., 2017, Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*. L) Dengan Parameter Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Pada Mencit (*Mus Musculus*) Jantan, *Jurnal Farmasi Galenika*, **4** (1): 1-7.
- Ilyas, Y., Muhammad, Firdayanti, Wahyuni, 2019. Peningkatan Imunitas Non Spesifik (*Innate Immunity*) Mencit Balb/C yang Diberi Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Galing (*Cayratia trifolia* L.Domin.), *Medical Sains*;3(2): 83-92.
- Intan, P.R., Winarno, M.W., Nita Prihartini, N., 2016, Efek Ekstrak Campuran Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris*) dan Meniran (*Phyllanthus niruri*) pada Mencit *Swiss Webster* yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*, *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, **6** (2):79-88.
- Izzati, S, A., Sumarno., Winarsih, S, 2014, Peran Komplemen, Fagosit (Leukosit) dan Antibodi dalam Menurunkan Jumlah *Mycobacterium tuberculosis*, *Majalah Kesehatan FKUB*, **1** (2): 74-80.
- Krisyuninda, M. P, Uji Toksisitas Fraksi Spons *Callispongia* sp. dengan Metode *Brine Shrimp Test* (BST) dari Perairan Pasir Putih Situbondo. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember; 2012.
- Kusmardi., Kumala, S., Triana, E, E, 2007, Efek Imunomodulator Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) Terhadap Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Makrofag, *AKARA, KESEHATAN*, **11** (2) : 50-55.
- Makiyah, A., Husin, U.A., Sadeli, R., 2016. Efek Imunostimulasi Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag pada Tikus Putih *Strain Wistar* yang Diinokulasi *Staphylococcus aureus*. *MKB*, **48** (2).
- Marusin, S., Chairul, 2012, Efek Ekstrak Air Dan Alkohol Pada Siwak (*Salvadora persica* L.) Terhadap Peningkatan Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel

- Makrofag, *Media Litbang Kesehatan*, **22(1)**:38-44.
- Nugroho, Y.A., 2012, Efek Pemberian Kombinasi Buah Sirih (*Piper betle* L) Fruit, Daun Miyana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. BR.) Leaf, Madu Dan Kuning Telur Terhadap Peningkatan Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag, *Media Litbang Kesehatan*, **22(1)**:1-5.
- Rahman, H., Aldi, Y., Mayanti, E., 2016, Aktifitas Immunomodulator Dan Jumlah Sel Leukosit Dari Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) Pada Mencit Putih Jantan, *Jurnal Farmasi Higea*, **8 (1)**.
- Rasyid, R., Yanwirasti, Ellyza Nasrul, E., 2008. Pengaruh Estrogen Terhadap Aktifitas Sel Makrofag Dalam Menfagosit *Candida albicans* Secara *In Vitro*, *Majalah Kedokteran Andalas*, **1 (32)**.
- Salim, M., Sulistyningrum, N., Isnawati, A., Sitorus, H., Yahya, Ni'mah, T., 2016, Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Kulit Buah Duku (*Lansium domesticum* Corr) dari Provinsi Sumatera Selatan dan Jambi, *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, **6 (2)**:117-128.
- Sari, N.I., Ahmad, A., dan Dali, S, Isolasi dan karakterisasi protein bioaktif dari Spons *Callyspongia* sp. sebagai zat antioksidan. Makassar: Program Sarjana Universitas Haanuddin; 2014. Available from: [URI:http://repository.unhas.ac.id/handle/123456789/8695](http://repository.unhas.ac.id/handle/123456789/8695).
- Sukmayadi, A, E., Sumiwi, A, S., Barliana, M, I., Aryanti, A, D, 2014, Aktivitas Immunomodulator Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn.). *Jurnal IJPST*, **1 (1)**: 65-72.
- Wahyuni, Malaka, Hajrul, M., Fristiohady A., Yusuf I.M., Sahidin, 2017. Potensi Immunomodulator Ekstrak Etanol Buah Kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Smith) Terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag Mencit Jantan Galur Balb/C. *PHARMACON*; **6(3)**:350-355.
- Wahyuni, Yusuf I.M., Fristiohady A., Malik, F., Indalifiany, A., Sahidin, 2019. Efek Immunomodulator Ekstrak Etanol Spons *Melophus sarasinorum* Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag Pada Mencit Jantan Balb/C *Jurnal Farmasi Galenika*; **5(2)**:147-157.
- Warbung, Y.Y., Wowor, V.N.S., Posangi, J., 2013, Daya Hambat Ekstrak Spons Laut *Callyspongia* Sp Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Jurnal E-GIGI*, **1 (2)**: 1-12.
- Zumrotul Mufidah, 2013, Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Meningkatkan Respon Imun Mencit (*Mus musculus*) Terhadap Infeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Journal of Health Sciences*, **6 (2)**: 27-3.