

# Aktivitas Imunomodulator Ekstrak *n*-Heksana, Etil Asetat, dan Metanol Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.)

Rini Prastiwi<sup>(a)\*</sup>, Kusrini<sup>(b)</sup>, Anwar Iqbal<sup>(b)</sup>, Aprina Kristi<sup>(b)</sup>

<sup>(a)</sup> Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka

<sup>(b)</sup> Universitas Setia Budi, Solo, Indonesia

Jinten hitam (*Nigella sativa* L.) adalah tanaman yang memiliki aktivitas imunomodulator. Kandungan biji jinten hitam adalah minyak atsiri, alkaloid, saponin, tanin, polifenol dan minyak lemak. Penelitian bertujuan untuk mengetahui efek imunomodulator ekstrak biji jinten hitam dengan parameter fagositosis makrofag dan peningkatan imunoglobulin G. Penelitian menggunakan 30 ekor mencit balb/c yang dibagi ke dalam 6 kelompok. Kelompok I diberi ekstrak *n*-heksana dengan dosis 1,6843 mg/20 gBB, kelompok II diberi ekstrak etil asetat dengan dosis 0,2682 mg/20 gBB, kelompok III diberi ekstrak metanol dengan dosis 0,4272 mg/20 gBB, kelompok IV kontrol positif menggunakan Imboost<sup>®</sup> dengan dosis 0,065 mg/20 gBB, kelompok V diberi CMC 0,5%, dan kelompok VI kontrol negatif siklofosfamid dengan dosis 2 mg/20gBB. Ekstrak diberikan selama 21 hari, hari ke-7 dan hari ke-14 masing-masing mencit diinjeksikan SRBC (*Sheep Red Blood Cells*) intraperitoneal. Pada hari ke-21 darah mencit diambil untuk diambil serumnya, kemudian kadar IgG diperiksa dengan ELISA reader. Fagositosis makrofag dilihat berdasarkan aktivitas dan kapasitas makrofag dari sedimen apus cairan intraperitoneal, dengan menghitung persentase 100 makrofag yang melakukan fagositosis. Kapasitas fagositosis ditetapkan berdasarkan jumlah lateks yang difagositosis oleh 50 makrofag aktif. Hasil yang didapatkan ekstrak biji jinten hitam memiliki potensi sebagai imunomodulator dan ekstrak *n*-heksana memiliki potensi yang tinggi sebagai imunostimulator dibandingkan ekstrak lain dengan hasil rata-rata presentasi aktivitas fagositosis makrofag 89,5% dan kapasitas fagositosis makrofag 1204 lateks, begitu juga hasil dengan uji IgG.

**Kata kunci:** jinten hitam, imunomodulator, IgG, makrofag.

## ***Immunomodulator Activity of n-Hexane, Ethyl Acetate and Methanol Extract of Black Cumin Seeds (Nigella sativa L.)***

*Black cumin (Nigella sativa L.) is a plant that has immunomodulator activity. Black caraway seed contains volatile oil, alkaloid, saponin, tannin, polyphenol and fat. The aim of this study was to find out the immunomodulator effect of black caraway seed extract with macrophage phagocytosis and increasing immunoglobulin G as parameters. The experiment used 30 balb/c mice divided in 6 groups. Group I was given 1.6843 mg/20 gBW n-hexane extract, group II was given 0.2682 mg/20 gBW ethyl acetate extract, Group III was given 0.4272 mg/20 gBW methanol extract, group IV as positive control that was given 0.065 mg/20 gBW Imboost<sup>®</sup>, group V was given CMC 0.5% and group VI as negative control was given 2 mg/20 gBW cyclophosphamide. The extract was given 21 days, at day-7 and day-14 each mice was injected with SRBC (Sheep Red Blood Cells). At day-21 the serum of mice blood was taken and the IgG level was examined with ELISA reader. Macrophages phagocytosis was observed according to macropages activity and capacity from peritoneal liquid smear preparation by counting percentage of 100 machropages that acting pahgocytosis. Capacity of phagocytosis was determined according to latex amount that being phagocytosed by 50 active macropages. The result indicated that black cumin seed extract had imunomodulator effect, and n-hexane extract had high potential as imunostimulator compared with the other extract, with average result percentage of macropages phagocytosis activity 89.5% and capacity of macrophages phagocytosis 1204 latex, the same as the result of IgG test.*

**Keywords:** *nigella sativa*, immunomodulator, IgG, macrophages.

\*Corresponding author: [khanzapas@gmail.com](mailto:khanzapas@gmail.com)

## PENDAHULUAN

Penyebab gangguan sistem kekebalan tubuh misalnya infeksi, kanker, leukimia, obat-obat kortikosteroid, obat untuk kanker. Melemahnya imunitas tubuh akibat pajanan ringan sekalipun akan menimbulkan manifestasi klinis yang sangat mengganggu, terlebih jika terjadi serangan agen infeksius yang ganas (Hanafi, 2009). Imunitas atau daya tahan tubuh merupakan respon tubuh terhadap bahan asing. Respon imun merupakan reaksi yang dikordinasi oleh sel-sel dan/atau molekul-molekul terhadap mikroba ataupun agen-agen lain, sehingga ketika kondisi imun menurun, maka pertahanan tubuh akan menurun dan tubuh bisa mudah ter-serang penyakit (Mathilda, 1997).

Makrofag sangat penting dalam memperantarai respon imun dan sering dikenal sebagai *Antigen-Presenting Cell* (APC) sebab mereka mengambil, mencerna, dan menyajikan material asing ini kepada sistem kekebalan lain seperti sel T dan sel B (Yosaphat *et al.*, 2008). Immunoglobulin G adalah immunoglobulin yang paling banyak. Molekul ini mencapai konsentrasi yang berarti baik intravaskuler maupun ekstrasvaskuler, mempunyai waktu paruh relatif lama (23 hari), dan dapat melewati plasenta. IgG diduga membantu imunitas melawan beberapa agen infeksi yang disebarkan melalui darah seperti bakteri, virus, parasit, dan beberapa jamur. Selain itu juga dapat memberi aktivitas antibodi di dalam jaringan.

Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas imunomodulator adalah jinten hitam (*Nigella sativa* L.). Telah banyak dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas biologisnya yang memperlihatkan efek antidiabetes dan antimalaria (Abdulelah *et al.*, 2007), anti tumor (Mbarek *et al.*, 2007), anti fungal (Khan *et al.*, 2003), antibakteri (Alhaj *et al.*, 2008), antiinflamasi, spasmolitik, hepatoprotektor (Mahmoud *et al.*, 2005), antidiabetik (Khanam dan Matira, 2008), dan antikanker (Iddamaldeniya *et al.*, 2003).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek imunomodulator ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa* L.) dengan parameter immunoglobulin G dan fagositosis makrofag.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Soxhlet, kondensor, lampu spiritus, mikroskop, alat gelas lainnya, kandang mencit, jarum oral, jarum suntik, mikropipet, inkubator, ELISA reader.

### Bahan

Biji jinten hitam, *n*-heksana, etil asetat, metanol, kit ELISA, siklofosfamid, mencit balb/c, silika gel GF 254, kloroform, toluen, butanol, air, Imboost®.

### Tahapan Penelitian

#### Identifikasi Makroskopik dan Mikroskopik Serbuk Biji Jinten Hitam

Diamati bentuk, warna, bau dan rasanya serta dilihat fragmen spesifiknya dengan menggunakan mikroskop dan preparat ditetesi dengan kloralhidrat.

#### Penetapan Kadar Air Serbuk Biji Jinten Hitam

Penetapan kadar air menggunakan destilasi dengan toluen.

#### Pembuatan Ekstrak Biji Jinten Hitam

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan soxhlet dengan ekstraksi bertingkat, dari pelarut non polar ke polar. Urutan pelarut yang digunakan adalah *n*-heksana, etil asetat, metanol. Ekstraksi dengan menggunakan serbuk sebanyak 50 gram. Masing-masing sari yang diperoleh dari *n*-heksana, etil asetat, dan metanol kemudian diuapkan dengan *vacuum evaporator*. Ekstrak yang diperoleh dibuat konsentrasi kadar sesuai dengan yang akan digunakan untuk percobaan.

#### Identifikasi Kualitatif Ekstrak Biji Jinten Hitam

Pengujian dilakukan terhadap alkaloid, saponin, tanin, polifenol, minyak atsiri, dan minyak lemak. Prosedur pengujian sesuai literatur Harbone (1987) dan Anonim (1979).

#### Identifikasi Kandungan Secara KLT

Dilakukan terhadap alkaloid, saponin, minyak atsiri, tanin, polifenol.

#### Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak pekat dari ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan metanol dibuat suspensi dengan konsentrasi ekstrak *n*-heksana 1,6830 mg/ml, ekstrak etil asetat 0,2681 mg/ml, metanol 0,4272 mg/ml, siklofosfamid 2 mg/ml dan Imboost® 0,65 mg/ml. Pembuatan sediaan dengan pengenceran menggunakan larutan CMC 0,5% sebagai pensuspensi. Dosis Imboost® dikonversikan dari dosis penggunaan pada manusia yaitu 250 mg x 0,0026 (faktor konversi) = 0,65 mg/20 gBB mencit. Sedangkan untuk siklofosfamid sesuai dengan Ghaisas *et al.* (2009) yang digunakan sebagai standar immunosupresan 100 mg/kg = 100 mg/1000g = 2 mg/20 gBB mencit.

#### Pembuatan SRBC

Darah diambil pada vena jugularis yang terdapat pada leher domba, diambil sebanyak 20 ml. Sel darah merah domba dipisahkan dari plasma dengan pemusingan 1500 rpm selama 15 menit. Plasma dikeluarkan kemudian dilakukan pencucian dengan PBS pH 7,4. Pencucian dilakukan minimum 3 kali. Setelah pencucian selesai didapatkan suspensi SRBC 100%. Pembuatan SRBC 20% dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 2 ml kemudian ditambah NaCl fisiologis hingga 100 ml.

#### Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba

Sebanyak 30 ekor mencit balb/c dibagi ke dalam 6 kelompok. Kelompok I diberi ekstrak *n*-heksana dengan dosis 1,6843 mg/20 gBB, kelompok II diberi ekstrak etil asetat dosis 0,2682 mg/20 gBB, kelompok III diberi ekstrak metanol dosis 0,4272 mg/20 gBB, kelompok IV kontrol positif menggunakan Imboost® dosis 0,065 mg/20 gBB, kelompok V diberi CMC 0,5%, dan kelompok VI kontrol negatif siklofosfamid dosis 2 mg/20 gBB. Ekstrak diberikan selama 21 hari, hari ke-7 dan hari ke-14 masing-masing mencit diinjeksikan SRBC (*Sheep Red Blood Cells*) intraperitoneal.

**TABEL 1. Hasil Randemen Ekstrak**

Bahan	Berat Serbuk (g)	Berat Ekstrak (g)	Randemen (%)	Rata-rata Randemen (%)
Ekstrak <i>n</i> -heksana	50,026	16,863	33,65	34,65
	49,990	17,747	35,50	
	49,953	17,832	34,80	
Ekstrak Etil Asetat	50,026	2,514	5,03	5,34
	49,990	2,847	5,70	
	49,953	2,644	5,30	
Ekstrak Metanol	50,026	4,626	9,23	9,76
	49,990	4,739	9,48	
	49,953	5,287	10,58	

**TABEL 2. Hasil Identifikasi Kualitatif Ekstrak**

No.	Kandungan Kimia	Pereaksi	<i>n</i> -heksana	Etil Asetat	Metanol
1	Alkaloid	Reagen Meyer dan Dragendorf	-	-	+
2	Saponin	Ekstrak+ air panas kocok 10 menit → timbul busa	-	+	+
3	Tanin	Ekstrak + 5 tetes FeCl <sub>3</sub> 5% Ekstrak + FeCl <sub>3</sub> → warna orange	-	-	+
4	Polifenol	Ekstrak + 0,5 ml Fehling A dan B	-	-	+
5	Minyak atsiri	Ekstrak diteteskan pada permukaan air Ekstrak + sudan III	+	-	-
6	Minyak lemak	Uji Salkowski	+	-	-

**TABEL 3. Hasil Identifikasi KLT Ekstrak**

Senyawa	Fase Diam	Fase Gerak	Deteksi		Pereaksi	Hasil	Pustaka
			254 nm	366 nm			
Alkaloid	Silika	CHCl <sub>3</sub>	Kuning	Hijau	Dragendorf	H : - E : - M : +	Anonim, 1992
	Gel GF <sub>254</sub>	MeOH (8,8:1,2)	Kuning	Hijau			
	Silika	CHCl <sub>3</sub>	Kuning	Hijau	Anisal-dehid	H : - E : + M : +	Anonim, 1992
Saponin	Gel GF <sub>254</sub>	MeOH : air (65:35:2)	Kuning	Hijau		H : + E : - M : -	Depkes, 1987
	Silika	Toluen : etil asetat (93:7)	-	-	Anisal-dehid	H : - E : - M : -	Depkes, 1987
	Gel GF <sub>254</sub>	<i>n</i> -heksana : etil asetat (3:7)	-	-	FeCl <sub>3</sub> 1%	H : - E : - M : +	Depkes, 1987
Poli-fenol	Silika	Butanol :	-	-	FeCl <sub>3</sub>	H : - E : + M : +	Soegihadjo <i>et al.</i> , 1996
	Gel GF <sub>254</sub>	asam asetat : air (4:1:5)	Kuning	ungu	1%		

**Keterangan:** H=ekstrak heksana, E=ekstrak etil asetat, M=ekstrak metanol.

**TABEL 4. Hasil Pemeriksaan Titer Immunoglobulin G (IgG)**

Hewan Coba	Ekstrak <i>n</i> -heksana	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Metanol	Imboost®	Siklofosamid
1	2,517	0,818	0,959	1,279	0,685
2	1,191	0,610	0,956	1,383	0,794
3	1,085	0,786	0,660	1,831	0,608
<b>Rata-rata titer IgG</b>	<b>1,598</b>	<b>0,738</b>	<b>0,858</b>	<b>1,498</b>	<b>0,696</b>

Pada hari ke-21 darah mencit diambil untuk diambil serumnya, kemudian kadar IgG diperiksa dengan ELISA reader. Fagositosis makrofag dilihat berdasarkan aktivitas dan kapasitas makrofag dari sediaan apus cairan intraperitoneal, dengan menghitung persentase 100 makrofag yang melakukan fagositosis. Kapasitas

fagositosis ditetapkan berdasarkan jumlah lateks yang difagositosis oleh 50 makrofag aktif.

**Analisa Data**

Analisa data dengan menggunakan ANOVA satu arah dengan uji Tukey HSD dan LSD.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Hasil Identifikasi Mikroskopik dan Makroskopik Serbuk**

Hasil organoleptis : serbuk, warna coklat kehitaman, bau khas, rasa khas. Hasil mikroskopik: didapatkan fragmen pengenal epidermis dalam, fragmen kulit biji, fragmen endosperm, fragmen lapisan sel berisi hablur berbentuk prisma.

**Hasil Penetapan Kadar Air**

Penetapan kadar air serbuk diperoleh rata-rata kadar air serbuk adalah 5,77%.

**Randemen Ekstrak yang Diperoleh**

Randemen ekstrak yang diperoleh adalah untuk ekstrak *n*-heksana 34,65%, ekstrak etil asetat 5,34%, dan metanol 9,76% (Tabel 1).

**Identifikasi Kualitatif Ekstrak (Tabel 2)**

**Hasil Identifikasi KLT (Tabel 3)**

Kandungan minyak atsiri di dalam biji jinten hitam adalah *thymoquinon*, *dithymoquinon*, *thymohydroquinon*, dan *thymol*. Senyawa-senyawa ini yang berpotensi sebagai imunomodulator dengan cara meningkatkan sel T dan sel NK (*natural killer*), sebagai perantara respon imun jika terjadi infeksi atau ada benda asing yang masuk ke dalam tubuh (Salem, 2005).

**Hasil Pemeriksaan Titer Immunoglobulin G (IgG)**

Penelitian ini menggunakan 5 hewan coba untuk tiap kelompok perlakuan. Untuk percobaan kadar titer IgG karena ketika dihitung masing-masing hasil tiap kelompok ada yang tidak masuk dalam ring standar deviasinya, maka data yang bisa diterima digunakan adalah 3 ekor mencit untuk masing-masing kelompok. Analisis data secara statistik menggunakan ANOVA satu jalan. Hasil pengujian *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data terdistribusi secara normal (0,684>0,05). Hasil homogenitas dengan *Levene Test* data diperoleh 0,157>0,05. Melalui hasil uji LSD didapatkan hasil bahwa perlakuan dengan ekstrak *n*-heksana berbeda nyata secara signifikan dengan ekstrak etil asetat, metanol, siklofosamid, tetapi tidak berbeda secara signifikan dengan perlakuan Imboost®. Kelompok perlakuan CMC 0,5% tidak dimasukkan ke dalam perhitungan statistik karena CMC hanya sebagai zat tambahan yang tidak bersifat toksikan.

**Hasil Pemeriksaan Aktivitas Fagositosis Makrofag**

Aktivitas fagositosis ditetapkan berdasarkan jumlah makrofag yang aktif melakukan fagositosis dalam 100 sel makrofag (Kusmardi *et al.* 2007).

$$\text{Aktivitas fagositosis} = \frac{\text{jumlah makrofag yang melakukan fagositosis}}{\text{jumlah makrofag}} \times 100$$

Dari Tabel 5 diperoleh hasil bahwa persentase aktivitas fagositosis makrofag yang tertinggi dimiliki oleh

**TABEL 5. Hasil Pemeriksaan Aktivitas Fagositosis Makrofag**

	Ekstrak <i>n</i> -heksana	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Metanol	Imboost®	Siklofosfamid
Persentase Aktivitas Fagositosis Makrofag (%)	96	73	86	78	52
Rata-rata	84,2	58,6	60,6	71,8	46

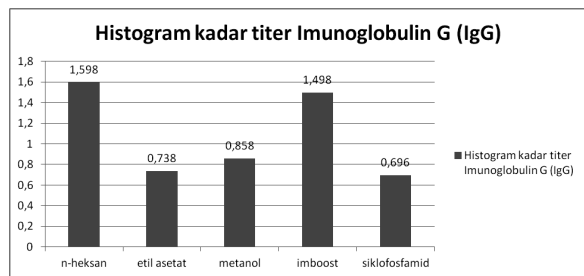
**TABEL 6. Hasil Post Hoc Anova Fagositosis Makrofag**

Fagositosis makrofag			
Tukey HSD			
Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
siklofosfamid	5	46.00	
ekstrak etil asetat	5	58.60	58.60
ekstrak metanol	5	60.60	60.60
imboost	5	71.80	71.80
ekstrak <i>n</i> -heksana	5		84.20
Sig.		.075	.078

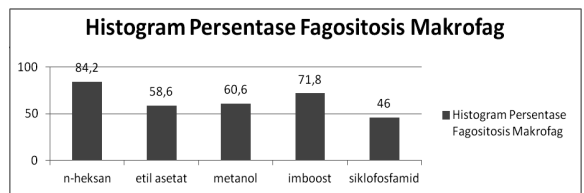
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

**TABEL 7. Hasil Kapasitas Fagositosis Makrofag**

	Ekstrak <i>n</i> -heksana	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Metanol	Imboost®	Siklofosfamid
Kapasitas Fagositosis Makrofag (%)	444	218	186	159	121
Total	1204	620	518	871	419

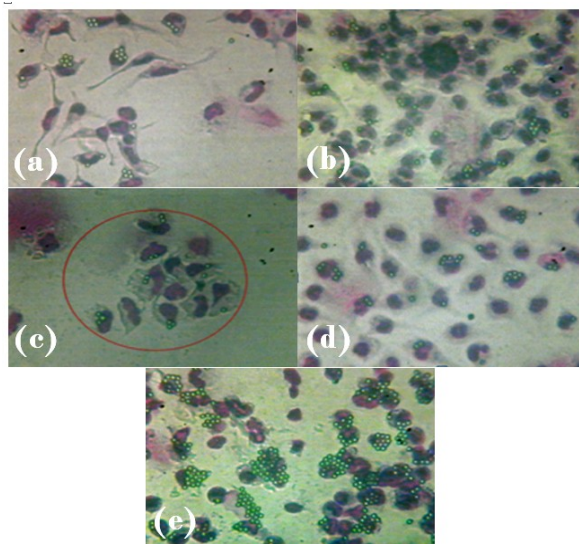


**GAMBAR 1.** Histogram kadar titer imunoglobulin G (IgG).



**GAMBAR 2.** Histogram persentase fagositosis makrofag.

ekstrak *n*-heksana, kemudian diikuti oleh ekstrak etil asetat, dan metanol. Hasil yang diperoleh didapatkan bahwa ekstrak biji jinten hitam dengan pelarut *n*-heksana ternyata lebih baik dibandingkan dengan Imboost® dalam memfagositosis makrofag. Data hasil analisa statistik menggunakan ANOVA satu jalan. Hasil pengujian *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data terdistribusi secara normal



**GAMBAR 3.** Fagositosis makrofag tiap kelompok perlakuan, (a) siklofosfamid, (b) UV 366 nm, (c) ekstrak metanol, (d) ekstrak etil asetat, (e) ekstrak *n*-heksana.

( $p > 0,05$ ). Hasil homogenitas dengan *Levene Test* data diperoleh data  $p > 0,05$ . Hasil uji *Post Hoc* dengan *Tukey HSD* didapatkan ekstrak *n*-heksana memiliki beda nyata dengan ekstrak etil asetat, ekstrak methanol, siklofosfamid dan Imboost®. Sedangkan ekstrak etil asetat, ekstrak metanol dan Imboost® tidak berbeda secara signifikan. Penelitian yang telah dilakukan memberikan hasil bahwa dengan pelarut *n*-heksana memiliki potensi yang paling tinggi sebagai imunostimulan dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol. Dari **Gambar 3** terlihat pada ekstrak *n*-heksana memfagositosis lateks lebih banyak dibandingkan dengan kelompok ekstrak yang lain.

**Kapasitas Fagositosis Makrofag**

Kapasitas fagositosis makrofag berdasarkan jumlah lateks yang difagositosis oleh 50 sel makrofag aktif (Kusmardi *et al.*, 2007). Hasil uji ANOVA dilakukan dengan menggunakan LSD diperoleh data bahwa ekstrak *n*-heksana memiliki beda nyata dengan etil asetat, metanol, dan siklofosfamid, sedangkan dengan kontrol positif Imboost® tidak berbeda secara signifikan. Kapasitas fagositosis yang paling besar adalah ekstrak *n*-heksana dengan 1204. Penelitian yang telah dilakukan memberikan hasil bahwa ekstrak biji jinten hitam dengan pelarut *n*-heksana memiliki potensi meningkatkan sistem kekebalan tubuh mencit yang dibuktikan dengan peningkatan fagositosis makrofag dan titer imunoglobulin G (IgG). Bila dibandingkan dengan kontrol positif Imboost®, hasil yang diperoleh lebih baik.

**KESIMPULAN**

Ekstrak *n*-heksana biji jinten hitam mempunyai aktivitas yang paling tinggi sebagai imunostimulan bila dibandingkan dengan ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat. Hasil fagositosis makrofag untuk ekstrak *n*-heksana adalah 84,20%, kapasitas fagositosis makrofag 1204, sedangkan kadar IgG adalah 1,598.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Abdulelah *et al.*, 2007, *In Vitro* Anti-malarial Test of *Nigella sativa* (Black Seed) Different Extract, **Am J Pharmacol Toxicol**, 2(2), 46-50.
- Anonim, 1979, **Materia medika Indonesia**, Jilid III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 112-117, 187.
- Ghaisas *et al.*, 2009, Evaluation of the immunomodulatory activity of ethanolic extract of the stem bark of *Bauhinia variegata* Linn, **Int J Green Pharm**, 3, 70-74.
- Hanafi, M, 2009, **Memburuknya Penyakit Infeksi Akibat Lemahnya Sistem Imun**, Jakarta.
- Harbone JB, 1987, **Metode Fitokimia**, Padmawati K dan Sudiro I (penerjemah), Penerbit ITB, Bandung.
- Khan *et al.*, 2003, The In Vivo Antifungal Activity of The Aqueous Extract from *Nigella sativa* Seeds, **Phytother Res**, 17 (2), 183-186.
- Khanam dan Matira, 2008, Effect of the Crude and the N-hexane Extract of *Nigella sativa* Linne (Kalajira) upon Diabetic Rats, **Bangladesh J Pharmacol**, 4, 17-20.
- Kusmardi *et al.*, 2007, Efek imunomodulator Daun Ketepeng Cina (*Casia alata* L.) Terhadap Aktifitas dan Kapasitas Fagositosis Makrofag, **Makara Kes**, 11(2).
- Mathilda, 1997, **Imunomodulator**, Jurusan Farmasi Institut Teknologi Bandung.
- Mbarek *et al.*, 2007, Anti-tumor Properties of Blackseed (*Nigella sativa* L.) Extracts, **Braz J Med Biol Res**, 40(6), 839-847.
- Mahmoud *et al.*, 2002, The Effect of *Nigella sativa* Oil Againts the Liver Damage Induced by *Schistosoma mansoni* Infection in Mice, **J Ethnopharmacol**, 79(1), 1-11.
- Iddamaldeniya *et al.*, 2003, Protection Againts Diethylnitrosoamine-induced Hepatocarcinogenesis by an Indigenous Medicine Comprised of *Nigella sativa*, *Hemidesmus indicus* and *Smilax glabra*: Preliminary Study, **J Carcinog**, 2(1), 6.
- Salem, 2005, Immunomodulatory and Therapeutic Properties of The *Nigella sativa* L Seed, **Int Immunopharmacol**, 5 (13-14), 1749-70, Epub 2005 Jul 1.
- Soegihardjo *et al.*, 1996, **Uji Aktifitas Sari Daun Randu *Ceiba pentandra* Gaertn.) Sebagai Penumbuh Rambut**, Penelitian Fakultas Farmasi UGM.
- Yosaphat *et al.*, 2008, **Pengujian Efek Imunomodulator Mikrokapsul Habatussauda (*Nigella sativa*) pada Tikus Putih terinfeksi *Vibrio cholerae***, Universitas Brawijaya, Malang.