

PENGARUH EKSTRAK RUMPUT KEBAR (*Biophytum petersianum Klotzsch*) TERHADAP JUMLAH B220 PADA MENCIT BETINA***THE EFFECT OF KEBAR GRASS (*Biophytum petersianum Klotzsch*) EXTRACT TO THE NUMBER OF B220 IN FEMALE MICE'S*****Petrus Sadsoeitoeboen^{1*}, Muhaimin Rifa'i², Muhammad Sasmito Djati², Soemarno³**¹Politeknik Pembangunan Pertanian Manokwari, Manokwari, Papua Barat²Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Brawijaya, Malang³Management of Natural Resources and Environment, Faculty of Agriculture, Universitas Brawijaya, Malang

*Korespondensi penulis, email: petrusdepan1@gmail.com

ABSTRAK

Imunomodulator merupakan bahan yang dapat mengembalikan ketidakseimbangan sistem imun. Ekstrak rumput Kebar (*Biophytum petersianum Klotzsch*) mempunyai senyawa-senyawa aktif yang berperan sebagai agen imunomodulator, salah satunya adalah flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dosis ekstrak rumput Kebar terhadap peningkatan jumlah sel B220 pada mencit betina. Rumput Kebar diekstrak dengan air yaitu dengan cara merebus (masak) semua bagian tanamannya (akar, batang, daun) dari masing-masing jenis dalam aquabides dengan perbandingan 100 gram dalam 3 liter aquabides) sambil diaduk dan dibiarkan mendidih, kemudian larutan tersebut disaring dan dibiarkan dingin lalu dibekukan dalam freezer selama 1 – 2 hari untuk selanjutnya dijadikan bubuk dengan metode pengeringan beku (freeze drying). Bubuk / jeli yang terbentuk kemudian digunakan sebagai bahan penelitian dengan cara melarutkan kembali dengan aquades sesuai dosis pada perlakuan. Selanjutnya ekstrak rumput Kebar diberikan pada 4 kelompok mencit (masing-masing 5 ulangan) secara oral dengan dosis 0, 0,48; 0,96 dan 1,92 mg/gr BB setiap hari selama 2 minggu. Setelah perlakuan, dilakukan dislokasi pada mencit, kemudian sel-sel limfositnya diisolasi dari limfa dan dilakukan perhitungan jumlah sel dengan flow cytometry. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak rumput Kebar menunjukkan pengaruh signifikan terhadap peningkatan jumlah sel dosis 0,48 mg/g BB terjadi peningkatan sebesar 7,860% menjadi 29,870%; dosis 0,96 mg/g BB terjadi peningkatan sebesar 6,800% menjadi 28,810%, dan dosis 1,92 mg/g BB terjadi peningkatan sebesar 0,6225% menjadi 22,6625%. Ekstrak rumput Kebar aktivitas sebagai imunomodulator yakni dosis 0,48 mg/gr BB lebih bersifat imunostimulator, sedangkan dosis 0,96 mg/g BB dan dosis 1,92 mg/g BB lebih bersifat immunosupresor.

Kata kunci: rumput Kebar, sel B220, Imunomodulator.

ABSTRACT

Immunomodulator is materials that can restore the immune system imbalances. Kebar grass extract (*Biophytum petersianum Klotzsch*) has active compounds that act as immunomodulatory agents, one of which is flavonoids. The purpose of this research was to determine the effect of Kebar grass extract dose on increasing the number of B220 cells in female mice. Kebar grass is extracted with water by boiling (cooking) all parts of the plant (roots, stems, leaves) of each species in the ratio of 100 grams in 3 liters of aquabides) while stirring and allowed to boil, then the solution is filtered and allowed to stand cold and then frozen in a freezer for 1-2 days and then made into powder by freeze drying method. The powder / jelly that is formed is then used as research material by dissolving again with distilled water according to the dose in the treatment. Furthermore Kebar grass extract was given to 4 groups of mice (each of 5 replications) orally at a dose of 0; 0.48; 0.96

and 1.92 mg / g BW daily for 2 weeks. After treatment, dislocations are carried out on mice, then the lymphocyte cells are isolated from the lymph and count the cells with flow cytometry. The results showed that the administration of Kebar grass extract showed a significant effect on increasing the number of cell doses of 0.48 mg / g BW an increase of 7.860% to 29.870%; dose of 0.96 mg / g BW an increase of 6.800% to 28.810%, and a dose of 1.92 mg / g BW an increase of 0.6225% to 22.6625%. Kebar grass extract activity as an immunomodulator ie the dose 0.48 mg / g BW is more immunostimulatory, while the dose is 0.96 mg / g BW and the dose of 1.92 mg / g BW is more immunosuppressor.

Keywords: Kebar grass, B220 Cell, Immunomodulator.

PENDAHULUAN

Imunomodulator merupakan suatu senyawa yang dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non spesifik. Pertahanan non spesifik terhadap antigen ini disebut paraimunitas dan zat bersangkutan disebut penginduksi paraimunitas. Induktor semacam ini biasanya tidak atau sedikit sekali kerja antigen-nya, bahkan sebagian bekerja sebagai mitogen yaitu menaikkan proliferasi sel yang berperan pada imunitas. Menurut Widiyanto (2011) menyatakan bahwa sel target dari imunomodulator adalah makrofag, granulosit, limfosit T dan B, karena induktor paraimunitas ini terutama menstimulasi mekanisme pertahanan seluler.

Rumput Kebar (*Biophytum petersianum Klotzsch*) mempunyai kandungan senyawa antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, steroid / triterpenoid dan asetogenin. Saifulhaq (2009) dalam penelitiannya membuktikan bahwa secara

laboratoris senyawa flavonoid dapat meningkatkan produksi IL-2 dan meningkatkan proliferasi dan diferensiasi limfosit sel T, sel B dan sel NK. Penelitian ini menggunakan B220 yang hanya diekspresikan pada sel B dan subset dari sel-sel bone marrow yang termasuk precursor sel B. Selanjutnya menurut Cell Science (2012) menyatakan bahwa Antigen B220 merupakan satu bentuk dari bentuk molekuler CD45. Antigen mencit CD45R (B220) mengekspresikan limfosit B yang seluruhnya berkembang dari fase pertama pro-B dan sampai downregulated akhir diferensiasi sel plasma.

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat terkait manfaat kandungan ekstrak rumput Kebar (*Biophytum petersianum Klotzsch*) dalam memberikan pengaruh terhadap sistem imun, dan memberikan informasi kepada masyarakat terkait dosis ekstrak rumput Kebar yang tepat jika digunakan sebagai

obat sehingga dapat dijadikan acuan penelitian selanjutnya.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Ekstraksi rumput Kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) dilakukan di Laboratorium Nutrisi Pakan Ternak Balai Besar Pelatihan Peternakan (BBPP) Batu-Malang dan selanjutnya dijadikan bubuk dengan metode pengering bekuan (*freeze drying*). Uji pengaruh peningkatan dosis yang diberikan pada mencit putih betina dilakukan di Laboratorium Kesehatan Hewan dan Reproduksi Balai Besar Pelatihan Peternakan (BBPP) Batu-Malang dan uji terhadap sistem imun dilakukan di Laboratorium Biomolekuler Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini berlangsung lebih kurang 3 bulan.

Materi Penelitian

Rumput Kebar

Rumput Kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) yang digunakan dalam penelitian ini diambil langsung dari Kecamatan Kebar Kabupaten Tambora Propinsi Papua Barat. Rumput tersebut langsung disortir dari gulma dan dibersihkan dari tanah yang ada pada akarnya, kemudian dikeringkan dengan

penjemuran panas matahari selama lebih kurang 2-3 hari.

Ekstraksi rumput Kebar (campuran) atau tanaman (tinggi dan rendah) dilakukan dengan air yaitu dengan cara merebus (masak) semua bagian tanamannya (akar, batang, daun) dari masing-masing jenis dalam aquabides dengan perbandingan 100 gram dalam 3 liter aquabides) sambil diaduk dan dibiarkan mendidih, kemudian larutan tersebut disaring dan dibiarkan dingin lalu dibekukan dalam freezer selama 1 – 2 hari untuk selanjutnya dijadikan bubuk dengan metode pengering bekuan (*freeze drying*). Bubuk / jeli yang terbentuk kemudian digunakan sebagai bahan penelitian dengan cara melarutkan kembali dengan aquades sesuai dosis pada perlakuan.

Hewan Percobaan

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih betina (*Mus musculus albinus*) dewasa sebanyak 20 ekor dengan berat badan berkisar antara 20-30 gram (rata-rata 25 gram). Lingkungan kandang dibuat tidak lembab, ventilasi udara cukup dan penyinaran otomatis dimana lama terang dan gelap masing-masing 12 jam. Setiap kelompok hewan perlakuan dimasukkan dalam kotak plastik dengan ukuran 30 cm x 25 cm x 15

cm untuk 5 ekor dan didalamnya diberi sekam sebagai alas kandangnya.

Makanan yang diberikan pada hewan perlakuan berupa pellet ikan dengan kandungan protein kasar berkisar antara 20 - 25 %. Makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum*.

Penentuan Dosis dan Pemberian Ekstrak rumput Kebar

Penentuan Dosis

Penentuan dosis pada mencit didasarkan pada dosis standar yang diberikan pada manusia yaitu 30 gram rumput Kebar kering yang terlarut dalam 200 ml larutan ekstrak atau sama dengan 0,95 gram (nilai hasil pengering bekuan /freeze drying).

Dosis yang diberikan pada mencit ditentukan berdasarkan perhitungan yang biasa digunakan oleh Laboratorium Teknologi Pangan dan Gizi FATETA-IPB yaitu :

berdasarkan tabel konversi dosis pada lampiran 1 (Evaluation of drug activities : pharmacometrics, ed. By Laurence and Bacharach (1964) :

$$\text{Bobot badan Manusia} = 50/70x$$

$$0,0026 = 0,0018571 \text{ (A)}$$

$$\text{Bobot badan Mencit} / 20x0,0018571$$

$$\text{(A)} = 25/20x0,0018571$$

$$= 0,00232138 \text{ (B)}$$

Jadi dosis standard yang diberikan pada Mencit =

$$\text{Nilai (B)} \times \text{Nilai hasil pengering}$$

$$\text{Bekuan} = 0,00232138 \times 0,95 \text{ gr}$$

$$= 0,00220531 \text{ gr atau}$$

$$2,20531 \text{ mg} = 2 \text{ mg / ekor /hari.}$$

Pemberian Ekstrak Rumput kebar

Pemberian ekstrak rumput Kebar pada setiap induk mencit dari masing-masing perlakuan sebanyak 0,25 ml per hari untuk setiap dosis dan dilakukan dengan mencekok selama 14 hari. Setelah 14 hari perlakuan 5 ekor dari masing-masing perlakuan dimatikan untuk melihat pengaruhnya terhadap sistem imun (pengambilan darah dari limpha).

Pemberian ekstrak rumput Kebar yang diberikan pada mencit perlakuan ditingkatkan 2 tingkatan dari dosis pada penelitian Sadsoeitoeboen (2005) yaitu :

$$\text{Dosis 0 (D0)} = \text{K o n t r o l}$$

$$\text{Dosis 1 (D1)} = 0,48$$

mg/gram bobot badan

$$\text{Dosis 2 (D2)} = 0,96$$

mg/gram bobot badan

$$\text{Dosis 3 (D3)} = 1,92$$

mg/gram bobot badan.

Metode

Pengambilan darah mencit

Pegambilan darah dilakukan dari organ limpha masing-masing mencit

perlakuan. Pemilihan organ limpha pada penelitian ini dikarenakan organ limpha merupakan organ limfoid sekunder dan tempat utama dalam merespon imun terhadap antigen yang berasal dari darah.

Mencit dari masing-masing perlakuan dimatikan dan disayat bagian abdomen sebelah kiri dengan menggunakan gunting bedah, kemudian organ limpha diambil dan dibilas dengan PBS lalu diletakkan dalam cawan petri yang berisi 5 ml PBS dan digerus menggunakan pangkal spuit. Kemudian darah yang larut dalam PBS tersebut diambil dan dimasukkan dalam tabung propilen, disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit dengan suhu 4°C kemudian diambil peletnya dan ditambahkan dengan anti bodi untuk digunakan dalam perhitungan analisis *flow cytometry*.

Menghitung Jumlah Relatif sel B220

Jumlah relatif sel B220 dihitung dengan metode analisis *flow cytometry* berdasarkan sampel darah yang diambil dari limpha hewan coba pada setiap tingkatan dosis. (pelet yang sudah ditambahkan dengan masing-masing anti bodi).

Rancangan Percobaan dan Analisa Statistik

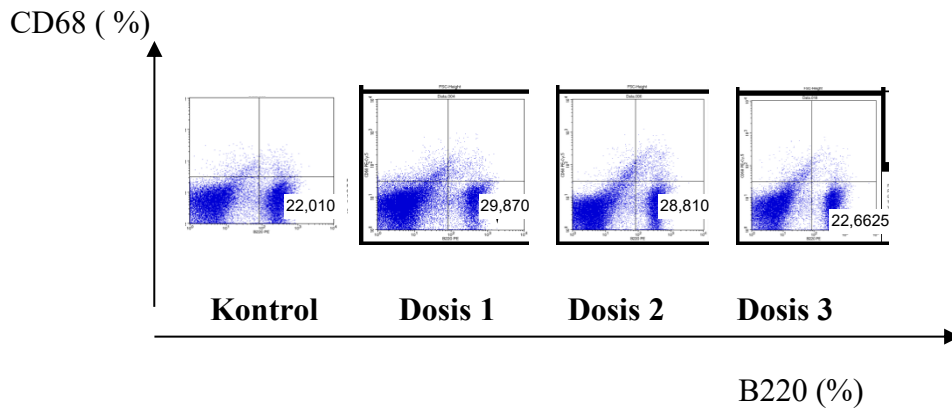
Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dosis ekstrak rumput Kebar yang masing-masing terdiri dari 5 ulangan.

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih betina dewasa sebanyak 20 ekor dengan bobot badan berkisar antara 20 gram sampai 30 gram (rata-rata 25 gram). Perlakuan dosis ekstrak rumput Kebar dilakukan setiap hari dengan cara mencekok dan setelah 14 hari semua mencit dimatikan, lalu darah limpha diambil untuk pengamatan imun dengan menggunakan *flow cytometry*.

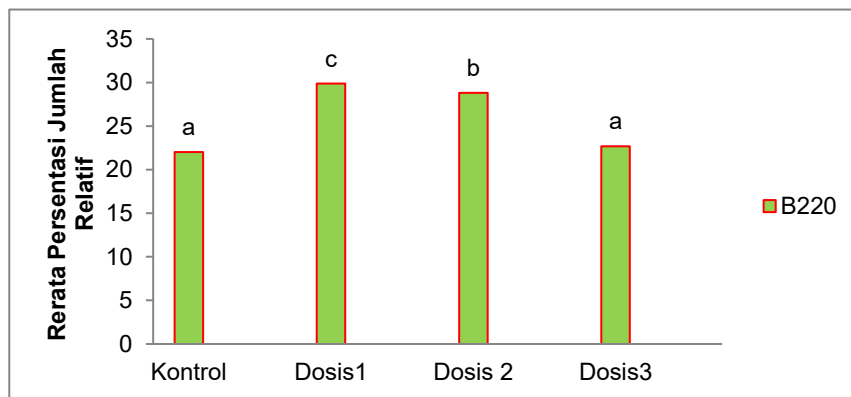
Pengujian data penelitian dilakukan dengan menggunakan metode uji beda rata-rata yaitu uji *one way anova* (untuk lebih dari 2 kelompok perlakuan). Sebelum dilakukan pengujian tersebut, ada asumsi yang mendasari yaitu normalitas data dengan menggunakan uji *shapiro wilk*, dan uji homogenitas ragam antar kelompok dengan *levene's test*. Jika data yang digunakan tidak memenuhi salah satu atau semua asumsi, maka dilakukan pengujian pengganti, yaitu uji *kruskal wallis*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rerata Persentasi Relatif Jumlah sel B220



Gambar 1. Profil Persentase Jumlah Relatif Sel B220 Hasil analisis *Flow cytometry* pada masing-masing perlakuan



Gambar 2. Rerata Persentasi jumlah relatif sel B220 pada perlakuan ekstrak rumput Kebar dengan dosis yang berbeda.

Sel B dalam sistem imun akan memproduksi B220 (pertanda permukaan) pada tahapan pembentukan plasma sel. Sel B220 adalah antigen yang diekspresikan oleh sel B dan subset sel T naive (CD62L). Sel B220 menunjukkan aktivitas peningkatan sel leukosit dengan

ditunjukkan dengan imunitas adaptif yang teraktivasi.

Berdasarkan hasil penelitian terhadap perhitungan jumlah relatif sel B220 dengan menggunakan flow cytometer menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak rumput Kebar yang diberikan pada mencit betina terjadi

peningkatan dibandingkan dengan kontrol. Berdasarkan hasil analisa statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan diantara masing-masing perlakuan. Dosis kontrol sebesar 22,010%; dosis 0,48 mg/g BB terjadi peningkatan sebesar 7,860% menjadi 29,870%; dosis 0,96 mg/g BB terjadi peningkatan sebesar 6,800% menjadi 28,810%, dan dosis 1,92 mg/g BB terjadi peningkatan sebesar 0,6225% menjadi 22,6625%. Pada dosis 0,96 mg/g BB dan dosis 1,92 mg/g BB mengalami penurunan dibandingkan dengan dosis 0,48 mg/g BB, namun berdasarkan hasil analisa statistik dosis 1,92 mg/g BB tidak berbeda nyata terhadap dosis kontrol.

Berdasarkan hasil penelitian bahwa peningkatan dosis ekstrak rumput kebar mampu memberikan pengaruh juga terhadap sel B220, tidak jauh berbeda pada pengaruhnya terhadap sel T CD4 dan sel T CD8 yakni ada yang mampu meningkatkan jumlah sel dan ada yang mampu menurunkan jumlah sel tersebut. Peningkatan jumlah sel B220 dimungkinkan karena adanya flavonoid dari ekstrak rumput kebar dan adanya infeksi bakteri pathogen yang mampu merangsang proliferasi limfosit. Menurut Saifulhaq (2009) bahwa flavonoid merupakan senyawa kimia yang memiliki kemampuan untuk meningkatkan

proliferasi sel limfosit. Selanjutnya proliferasi sel limfosit dirangsang oleh adanya antigen, terutama diatur oleh pengaruh IL-2. Peningkatan jumlah sel B220 pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak rumput Kebar bersifat imunostimulator. Sel B220 menunjukkan aktivitas peningkatan sel leukosit dengan ditunjukkan imunitas adaptif yang teraktivasi. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak rumput Kebar mampu mempengaruhi produksi sel limfosit baik sel T maupun sel B. Beberapa sel T juga berkontribusi dalam eradikasi mikroba ekstraseluler dengan merekrut leukosit yang menghancurkan patogen dan membantu sel B membuat antibodi yang efektif (Abbas *et al.*, 2015). Kemudian Sel B220 meningkat menunjukkan peningkatan sel plasma karena sel B220 merupakan subset dari isoform CD45 dominan yang diekspresikan pada semua limfosit sel B dan mengatur sel plasma. Menurut Abbas (2005) menyatakan bahwa pada mencit, seluruh sel yang pada jalur perkembangan sel B akan mengekspresikan molekul permukaan, baik pada sel progenitor, sel pro B pada sumsum tulang belakang, hingga sel B matur pada sirkulasi perifer dan sel B yang teraktivasi. Selanjutnya dengan meningkatnya sel plasma menunjukkan bahwa ekstrak rumput kebar memiliki

efek imunostimulator. Hal ini diduga karena bahan aktif dari ekstrak rumput Kebar berupa flavonoid yang bertindak sebagai Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK), sehingga dapat memicu proliferasi sel B. Menurut Middleton *et al.*, (2000) menyatakan bahwa flavonoid dapat memicu aktivitas MAPK yang memicu terjadinya proliferasi berbagai protein transcriptions factor (PTF) yang dibutuhkan dalam sintesis protein. Selanjutnya dikatakan bahwa flavonoid juga dapat meningkatkan sekresi IL-2. Menurut Craxton *et al.*, (1998) menyatakan bahwa MAPK dapat menginduksi terjadinya aktivasi protein trascription factor yaitu NF- κ B yang merupakan faktor transkripsi yang dapat menstimulasi proliferasi dan diferensiasi sel B220 melalui regulasi sitokin. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Liu and Park (2005) yang menyatakan bahwa flavonoid jenis flavonol dapat menjadi imunostimulan yang dapat memacu peningkatan IL-2. Senyawa flavonol glikosida adalah glikoprotein dari tumbuhan yang bersifat mitogen yang mampu menginduksi mitosis pada sel-sel timus sehingga meningkatkan transkripsi (IFN- γ), kemudian terjadi peningkatan sitokin (IL-2). Kemudian Azizah (2011) menyatakan bahwa flavonoid juga dimungkinkan dapat memicu proliferasi

dan diferensiasi sel T dan sel B yang diduga melalui produksi sitokin IL-2, IL-4 dan IL-1. Hal ini juga didukung oleh hasil penelitian Singh (2005) menyatakan bahwa ekstrak daun Kedondong laut (*Polyscias obtusa*) mengandung senyawa flavonoid yang dipercaya mampu mampu memodulasi sistem imunitas spesifik, dan meningkatkan kinerja IL-2 dan selanjutnya memodulasi poliferasi limfosit Sel B220⁺. Kemudian Baratawidjaja (2006) menyatakan bahwa IL-2 dapat bertindak sebagai faktor proliferasi dan diferensiasi sel B. Agen infeksi yang berada di luar sel dapat dilawan dengan respon imun humoral. Secara teoritik, sel T CD4⁺ membantu sel B dalam respon kekebalan humoral. Respon ini dimediasi oleh serum antibodi, suatu protein yang disekresikan oleh sel B (Benjamini *et al.*, 2000).

Kemudian dilain pihak penurunan jumlah populasi sel B220 pada dosis 0,96 mg/g BB dan dosis 1,92 mg/g BB diduga disebabkan adanya agen infeksi. Menurut Khan *et al.*, (2010) menyatakan bahwa penurunan jumlah jumlah sel B220 sebagai akibat adanya migrasi sel B yang ada pada sumsum tulang menuju organ limfosit perifer sebagai proses homeostatis dalam mengatasi bakteri patogen. Selanjutnya Alberts *et al.*, (2008) menyatakan bahwa migrasi limfosit B

pada jaringan limfoid perifer sebagai upaya adaptasi dan aktivasi sel B dalam merespon adanya antigen dengan cara memproduksi molekul antibodi melalui mekanisme diferensiasi menjadi sel plasma atau membentuk sel memori.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa: (1) Peningkatan dosis ekstrak rumput Kebar (dosis 0,48; dosis 0,96 dan dosis 1,92 mg/gr BB) dapat mempengaruhi sistem imun mencit betina. (2) Dosis 0,48 mg/g BB terjadi peningkatan sebesar 7,860% menjadi 29,870%; dosis 0,96 mg/g BB terjadi peningkatan sebesar 6,800% menjadi 28,810%, dan dosis 1,92 mg/g BB terjadi peningkatan sebesar 0,6225% menjadi 22,6625%. (3) Pemberian Ekstrak rumput Kebar aktivitas sebagai imunomodulator yakni dosis 0,48 mg/gr BB adalah merupakan dosis yang berperan dalam peningkatan jumlah sel B220 sehingga lebih bersifat imunostimulator, sedangkan dosis 0,96 mg/g BB dan dosis 1,92 mg/g BB lebih bersifat immunosupresor karena menurunkan jumlah sel B220 pada mencit betina.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K dan A.H. Litchman. 2005. Cellular and Molecular Immunology Fifth Edition. Philadelphia : Saunders Elsevier. 122-123.
- Abbas, A.K, A.H. Litchman dan S. Pillai. 2015. Cellular and Molecular Immunology, Eight Edition, Elsevier, Saunders, Philadelphia.
- Alberts B, A. Jhonson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts dan P. Wolter. 2008. Molecular Biology Of The Cell. Ed.5. USA Garland Science. Pp.63-66.
- Azizah N.F. 2011. Efek Pemberian Tappak Liman terhadap Hematopoesis Mencit model Anemia. Thesis. Universitas Brawijaya. Malang.
- Baratawidjaja K.G. 2006. Immunologi Dasar.Edisi VII. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. P 30-47.
- Benjamini E, R.Coico and G.Sunshine. 2000. Immunology A Short Course, Fourth Edition, Wiley-Liss, A John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Cell Science. 2012. B220. <http://www.copewithcytokines.de/>. Diakses tanggal 27 Juni, 2017.
- Craxton A, G.Shu, C.D. Graves, J. Saklatvala, E.G. Krebs dan E.A. Clark. 1998. p38 MPAK is required for CD40 induced gene expression and proliferation in B Lymphocytes. Journal of Immunology 161: 3225-3236.
- Khan W.N, N.P. Shinnars, I. Castro and K.L. Hoek. 2010. Contemporary Immunology. Miami USA. Humana Pres. Pp 88-95.
- Laurence D.R dan A.L. Bacharach. 1964. Evaluation of drug activities :

Pengaruh Ekstrak Rumput Kebar (Biophytum petersianum Klotzsch) Terhadap Jumlah B220 pada Mencit Betina. Petrus Sadsoeitoeboen, Muhaimin Rifa'i, Muhammad Sasmito Djati, Soemarno.

pharmacometrics. Vol 1 and 2,
Academic Press Inc. London.

Saifulhaq M. 2009. Pengaruh pemberian Ekstrak Buah Mahkota Dewa Dosis Bertingkat Terhadap Proliferasi Limfosit Lien pada Mencit BALB/C. Biomedika.1.2.33.

Singh, S.D.J. 2005. Wound healing activity of the leaf extracts

and Deoxyelephantopi Isolate From Elephantopus scaber Lin Phytochemistry.37:238-242.

Widiyanto, M. 2011. Imunomodulator. www.scribd.com/doc/92831441/ftimmunomodulato. Diakses tanggal 20 Mei, 2017.