

UJI AKTIVITAS IMUNOMODULATOR EKSTRAK METANOL BUAH KECOMBRANG (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Smith) TERHADAP RESPON IMUN SPESIFIK PADA MENCIT

IMMUNOMODULATORY ACTIVITY TEST OF METHANOL EXTRACT OF KECOMBRANG FRUIT (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Smith) AGAINST SPECIFIC IMMUNE RESPONSE IN MICE

Dani Fahri Husada¹, Arini Fadhillah^{1*}

¹Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah
Surakarta, Sukoharjo, Indonesia

*E-mail correspondence : af993@ums.ac.id

Dikirim : 24 Maret 2025, Disetujui : 30 Mei 2025, Diterbitkan : 31 Mei 2025

Abstrak

Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Smith) adalah tanaman dari famili *Zingiberaceae* yang terdapat di Indonesia khususnya daerah Sulawesi, Sumatera, dan Jawa. Di daerah Konawe Sulawesi Tenggara buah kecombrang disebut dengan nama buah wualae, oleh masyarakat buah ini biasanya dijadikan sebagai bahan tambahan dalam masakan. Selain itu, bukti empiris di kabupaten Kolaka Utara Sulawesi Tenggara, buah kecombrang digunakan sebagai obat demam tifoid karena diyakini dapat membantu dalam pemulihan. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam buah antara lain yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, dan minyak atsiri yang bermanfaat sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan aktivitas imunomodulator ekstrak metanol buah kecombrang terhadap respon imun spesifik pada mencit. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah hemaglutinasi pengukuran titer antibodi. Dosis ekstrak metanol buah kecombrang yang digunakan secara per oral yaitu 25, 50, dan 100 mg/kgBB dengan perlakuan selama 12 hari. Hasil titer antibodi menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah kecombrang kontrol positif memiliki nilai titer 1:1024 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif 1:128. Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa sampel ekstrak metanol buah kecombrang mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah kecombrang dosis 25, 50, dan 100 mg/kgBB memiliki aktivitas imunomodulator sebagai imunostimulan terhadap respon imun mencit.

Kata Kunci: buah kecombrang, *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith, imunomodulator, titer antibodi, *Zingiberaceae*.

Abstract

Kecombrang (Etlingera elatior (Jack) R.M. Smith) is a plant from the Zingiberaceae family which is found in Indonesia, especially in the regions of Sulawesi, Sumatra and Java. In the Konawe area, Southeast Sulawesi, the kecombrang fruit is called the wualae fruit by the local people. This fruit is usually used as an additional ingredient in cooking. In addition, empirical evidence in North Kolaka district, Southeast Sulawesi, states that kecombrang fruit is used as a medicine for typhoid fever because it is believed to help in recovery. The bioactive compounds contained in the fruit include alkaloids, flavonoids, saponins and

essential oils which are also useful as antioxidants. This study aims to determine the immunomodulatory activity of methanol extract of kecombrang fruit against specific immune responses in mice. The method used in this study was hemagglutination antibody titer measurement. The doses of kecombrang fruit methanol extract used orally were 25, 50, and 100 mg/kgBW with treatment for 12 days. The antibody titer results showed that the positive control methanol extract of kecombrang fruit had a titer value of 1:1024 higher than the negative control group, 1:128. The results of the phytochemical screening test showed that the methanol extract of kecombrang fruit contained alkaloids, flavonoids and tannins. Based on the results of the study, it was shown that the methanol extract of kecombrang fruit doses of 25, 50 and 100 mg/kg BW had immunomodulatory activity as an immunostimulant at a moderate level against the immune response of mice.

Keywords: Antibody titer, *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith, immunomodulator, kecombrang fruit, *zingiberacea*

PENDAHULUAN

Pada masa seperti sekarang ini, adanya pandemi Covid-19 menuntut masyarakat untuk meningkatkan imun dalam tubuh supaya tidak mudah terinfeksi (Rasyid & Pasoan, 2021). Imunomodulator adalah substansi yang digunakan untuk mempengaruhi sistem imun dan mempunyai kemampuan untuk meningkatkan respon imun dalam tubuh atau perlindungan terhadap patogen penyebab infeksi. Imunomodulator dapat dibagi dalam dua kategori berdasarkan efeknya yaitu imunostimulan yang dapat meningkatkan sistem imun dan imunosupresan yang bekerja untuk menekan sistem imun (Djauzi, 2003). Terapi non-farmakologis untuk meningkatkan imun tubuh antara lain yaitu dengan mencukupi kebutuhan gizi, cukup istirahat, dan melakukan olahraga secara rutin.

Kecombrang merupakan tanaman obat yang berpotensi sebagai imunomodulator dengan berbagai kandungan zat yang bermanfaat di dalamnya. Buah ini merupakan salah satu tanaman dari famili *Zingiberacea* yang terdapat di Indonesia (Gresinta, 2019). Buah kecombrang disebut dengan nama wualae, oleh masyarakat Konawe Sulawesi Tenggara yang sering digunakan sebagai bahan tambahan pada masakan karena memiliki aroma buah yang segar. Secara bukti empiris bertempat di kabupaten Kolaka Utara Sulawesi Tenggara, buah kecombrang juga sering digunakan dalam penyembuhan demam tifoid karena terdapat senyawa bioaktif antara lain saponin, flavonoid, alkaloid, dan minyak atsiri yang bermanfaat sebagai antioksidan. Berdasarkan hasil penelitian dengan metode uji fagositosis pemberian ekstrak metanol buah kecombrang pada dosis 400 mg/KgBB menunjukkan aktivitas fagositosis makrofag meningkat dengan persentase tertinggi yaitu sebesar 71,25% (Wahyuni, 2017). Komponen senyawa antioksidan buah kecombrang inilah yang dapat menjadi sumber agen imunomodulator karena secara biologis antioksidan merupakan senyawa yang dapat mengatasi dampak negatif oksidan pada tubuh seperti kerusakan elemen vital sel tubuh. Keseimbangan antara oksidan dan antioksidan sangat penting karena berkaitan dengan kerja fungsi sistem imunitas dalam tubuh, terutama berperan dalam menjaga integritas dan berfungsinya protein sel, asam nukleat, dan membran lipid, serta mengontrol ekspresi gen dalam sel imun dan transduksi signal (Aditya & Ariyanti, 2016). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan penelitian sebelumnya dengan menguji aktivitas imunomodulator ekstrak metanol buah kecombrang terhadap respon imun spesifik dengan parameter titer antibodi.

Metanol merupakan pelarut yang memiliki sifat polar. Penelitian ini menggunakan pelarut metanol karena dapat melarutkan senyawa yang bersifat non polar maupun polar, seperti flavonoid, saponin, dan alkaloid sehingga diharapkan dapat menarik lebih banyak senyawa kimia pada tanaman (Surahmaida & Umarudin, 2019). Pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang terkandung dalam sampel, dengan sifat yang mudah menguap sehingga pelarut mudah dipisahkan dari ekstrak (Ahmad *et al.*, 2015). Penggunaan pelarut metanol diharapkan mampu menarik senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin yang terdapat pada buah kecombrang. Berdasarkan pada latar belakang di atas senyawa sekunder yang dimiliki buah kecombrang berpotensi memiliki aktivitas imunomodulator dan meningkatkan sistem imun, maka perlu dilakukan uji aktivitas ekstrak metanol buah kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R.M Smith) terhadap respon imun spesifik pada mencit yang diinduksi SRBC (*Sheep Red Blood Cell*).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain *rotary evaporator* (Stuart RE300/MS), timbangan analitik (Ohaus), blender (Miyako), oven (Binder), gelas kaca (140 mL), sonikator (Branson), kandang mencit, tabung vaculab EDTA (Onemed®), sonde oral, spuit 1 mL (Onemed®), jarum 26G x ½, plat 96 sumur mikro dengan dasar V.

Bahan

Buah kecombrang diambil dari perkebunan di Pangandaran pada bulan April 2022, CMC-Na 0,5%, metanol pa, NaCl 0,9% (WIDA), etanol pa, HCl 2%, HCl pekat, metilprednisolon (Etercon Pharma), levamisole (Pharmaceutical grade, PT. Konimex Solo), aqua deionisasi, SRBC (sel darah merah domba).

Pembuatan ekstrak metanol buah kecombrang

Determinasi sampel

Determinasi sampel pada tanaman kecombrang dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematis Tumbuhan Universitas Setiabudi.

Pembuatan simplisia

Sampel buah kecombrang yang diperoleh dari petani di perkebunan Pangandaran Jawa Barat, dicuci terlebih dahulu untuk menghilangkan berbagai macam kotoran yang menempel pada buah. Kemudian buah yang telah dibersihkan dipotong-potong menjadi lebih kecil kemudian dimasukkan ke dalam lemari pengering selama 2 hari. Sampel buah yang telah kering diblender menjadi simplisia halus.

Ekstraksi buah kecombrang

Sampel serbuk buah kecombrang dimasukkan ke dalam tempat wadah maserasi kemudian pelarut metanol ditambahkan dengan perbandingan 1:10 hingga serbuk simplisia terendam. Serbuk yang telah direndam dibiarkan selama 3 hari dan rendaman diaduk setiap hari agar zat yang telah jenuh tetap terlarut. Kemudian setelah ekstraksi yang pertama selesai, terdapat sisa ampas serbuk kemudian dimaserasi kembali dengan metanol atau penyari yang

baru dengan perbandingan volume yang sama. Ekstrak yang telah dikumpulkan kemudian disaring menggunakan vakum *Buchner* dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50 °C. Zat aktif yang diperoleh dari *evaporator* kemudian diuapkan pada *waterbath* selama 2 hari hingga menjadi ekstrak kental buah kecombrang.

Pengurusan Ethical Clearance

Penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) RSUD Dr. Moewardi dengan nomor surat : 962 / VII / HREC / 2022.

Pengkondisian hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mencit galur Swiss jantan dengan kondisi normal berusia 8-10 minggu dan berat rata-rata 20-25 gram. Penelitian ini menggunakan mencit kondisi yang sehat dengan ciri antara lain warna putih bersih, mata merah bersih, gerak yang aktif dan normal. Mencit diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari dengan tujuan agar hewan uji terhindar dari pengaruh stres yang dapat menyebabkan terganggunya penelitian dan hasil.

Kesehatan dan tempat kandang mencit merupakan hal yang perlu diperhatikan dengan menjaga pola makan yang teratur, diberikan makan dan minum setiap hari, serta terdapat pertukaran cahaya gelap dan terang setiap 12 jam. Hewan uji dibagi dalam 6 kelompok pada setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Tiap kandang mencit terdapat tempat minum dan disediakan sekam, kandang dibersihkan setiap 3 hari sekali agar menjaga kandang tetap bersih.

Skrining fitokimia

Uji alkaloid

Pemeriksaan uji alkaloid dilakukan dengan melarutkan sampel dengan aquadest kemudian ditambahkan reagen Wagner (iodin dalam kalium iodida) maka akan membentuk endapan coklat, apabila ditambahkan dengan reagen Dragendorff (bismuth nitrat dalam kalium iodida) akan membentuk endapan merah, dan jika ditambahkan dengan reagen Mayer (tertraiodomercurate (II)) akan membentuk endapan berwarna putih, maka terdapat kandungan alkaloid pada sampel uji (Harborne, 1996).

Uji saponin

Sampel uji dilarutkan dalam aquadest kemudian dipanaskan dalam air yang telah mendidih selama 10 menit kemudian dikocok selama 10 detik. Apabila terdapat busa dengan penambahan asam klorida 2N dan bertahan kurang lebih selama 10 menit, maka terdapat kandungan saponin pada sampel (Harborne, 1996) .

Uji tanin

Sampel uji 1 mL ditambahkan 5 bagian air panas dimasukkan pada tabung reaksi, kemudian ditambah dengan FeCl_3 1% dua tetes. Apabila terjadi warna hijau kehitaman atau biru kehitaman maka terdapat kandungan senyawa tanin dalam sampel uji (Harborne, 1996).

Uji flavonoid

Pemeriksaan uji flavonoid ini diuji dengan menimbang sebanyak 1 g sampel simplisia dan ekstrak uji lalu ditambahkan dengan air panas 10 mL, kemudian dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, lalu ke dalam 5 mL filtrat 30 ditambahkan 2 mL amil alkohol dan 0,1 g serbuk magnesium kemudian dikocok dan dibiarkan memisah. Jika terjadi warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol, maka dalam ekstrak uji terdapat kandungan flavonoid.

Uji respon imun spesifik

Penyiapan suspensi SRBC (*Sheep Red Blood Cell*)

Sel darah merah domba diperoleh dari Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. SRBC (*Sheep Red Blood Cell*) ditampung di dalam wadah bersih yang telah berisi EDTA sebagai antikoagulan. Kemudian disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm untuk memisahkan plasma dan sel darah merah domba (Herwin and Meilani, 2016). Plasma yang terdapat pada lapisan bagian atas dibuang dan lapisan bawah berupa sel darah merah ditambahkan larutan NaCl 0,9% sebanyak tiga kali volume sel darah yang tersisa, kemudian dikocok beberapa kali dan disentrifuse kembali. Dalam proses pencucian dilakukan 3 kali hingga pada lapisan yang atas menjadi jernih dan tidak berwarna keruh. Larutan NaCl 0,9% diambil dan didapat sel darah 100%, kemudian NaCl 0,9% ditambahkan dengan jumlah yang sama hingga diperoleh suspensi sel darah 50%. Untuk mendapatkan suspensi sel darah 10%, dipipet 2 mL suspensi sel darah 50% dan ditambahkan dengan larutan NaCl 8 mL.

Uji hemaglutinasi

Mencit yang telah diaklimatisasi selama 7 hari kemudian dikelompokkan yang terdiri atas 6 kelompok dengan tiap kelompok berjumlah 5 ekor dan diberikan perlakuan secara peroral dengan ekstrak metanol buah kecombrang satu kali sehari selama 12 hari sesuai dengan dosis.

- 1) Kelompok I sebagai kontrol positif imunostimulan (levamisole 2,5 mg/KgBB)
- 2) Kelompok II kontrol positif immunosupresan (metilprednisolon 40 mg/kgBB)
- 3) Kelompok III sebagai kontrol negatif (CMC Na 0,5%)
- 4) Kelompok IV sebagai kelompok perlakuan ekstrak metanol buah kecombrang 25 mg/kgBB
- 5) Kelompok V sebagai kelompok perlakuan ekstrak metanol buah kecombrang 50 mg/kgBB
- 6) Kelompok VI sebagai kelompok perlakuan ekstrak metanol buah kecombrang 100 mg/kgBB)

Darah merah domba dicuci dengan larutan NaCl 0,9% menggunakan alat sentrifugasi sebanyak 3 kali imunisasi secara intraperitoneal pada hari ke-3 dengan dosis SRBC 10% 0,1 mL/10 gBB yang diberikan setelah pemberian ekstrak uji. Darah mencit di hari ke-8 diambil melalui vena lateralis yang terdapat pada ekor mencit, selanjutnya darah disentrifuse untuk memisahkan darah dan serumnya, kemudian serumnya diambil. Setiap kelompok percobaan dilakukan uji titer antibodi primer dengan metode hemaglutinasi yang dilihat secara visual pada

microplate 96 v-bottom (plat 96 sumur mikro dasar V). Pada setiap sumuran plat 96 mikro mula-mula diberikan 50 μ L NaCl 0,9%. Larutan stok dibuat dengan cara diencerkan serum uji 1:2, pada baris pertama diletakkan larutan stok, kemudian dilakukan pengenceran 1:2 sampai 1:4. Sumuran yang sudah terdapat larutan stok ditambahkan SRBC 2% sebanyak 50 μ L dan disimpan selama 24 jam dalam suhu ruang. Pengenceran dengan nilai tertinggi dari hemaglutinasi merupakan titer antibodi primer. Imunisasi dilakukan kembali pada mencit menggunakan SRBC 10% sebanyak 0,1 mL/10gBB pada hari yang sama dengan penentuan titer antibodi primer. Lima hari setelah imunisasi kedua, diambil darah pada mencit untuk diamati dan dilihat hemaglutinasi yang terjadi sebagai titer antibodi sekunder (Faradilla & Iwo, 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji hemaglutinasi

Pengujian aktivitas imunomodulator ekstrak metanol buah kecombrang dilakukan dengan uji titer antibody dengan tujuan mengetahui pengaruh ekstrak terhadap mekanisme sistem imun humoral yang melibatkan sel T dan sel B (Sebayang & Hasibuan, 2021). Hasil uji titer antibodi ditetapkan dengan melihat pembacaan titer antibodi secara visual dari reaksi hemaglutinasi yang terjadi (Siswanti & Marbun, 2022). Pada pengamatan tersebut dilihat penyebaran dan pengendapan SRBC (*Sheep Red Blood Cell*) pada dasar *microplate well 96*. Dalam uji titer antibodi dengan metode hemaglutinasi dapat dikatakan positif jika endapan SRBC (sel darah merah domba) tersebar merata pada *microplate well 96*, sedangkan hemaglutinasi negatif yaitu terdapat endapan dan ditandai adanya titik merah pada bagian dasar *microplate well 96* (Rastuati & Gultom, 2013). Nilai titer antibodi ditentukan dari pengenceran terakhir yang masih menimbulkan hemaglutinasi yang tersebar merata pada *microplate* dapat dilihat secara visual. Jika nilai titer antibodi yang diperoleh semakin tinggi, maka antibodi yang dihasilkan semakin banyak dan memiliki aktivitas imunomodulator sebagai imunostimulan (Effendi & Widiastuti, 2014). Hasil uji titer antibodi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji hemaglutinasi SRBC terhadap respon imun spesifik

Kelompok	Titer antibodi primer	Titer antibodi sekunder
Levamisole	1:512	1:1024
Metilprednisolon	1:64	1:64
CMC-Na 0,5%	1:128	1:128
EMBK 25	1:512	1:512
EMBK 50	1:512	1:1024
EMBK 100	1:1024	1:1024

Keterangan :

Levamisole = kontrol positif (imunostimulan)

Metilprednisolon= kontrol positif (imunosupresan)

CMC-Na = kontrol negatif

EMBK 25 = ekstrak metanol buah kecombrang 25 mg/kgBB

EMBK 50 = ekstrak metanol buah kecombrang 50 mg/kgBB

EMBK 100 = ekstrak metanol buah kecombrang 100 mg/kgBB

Hasil yang diperoleh pada tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah kecombrang pada dosis 25, 50, dan 100 mg/kgBB menunjukkan titer antibodi sekunder yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif, dan memiliki nilai yang sama dengan kontrol imunostimulan, hal tersebut menunjukkan bahwa setiap dosis ekstrak metanol buah kecombrang memiliki aktivitas imunomodulator sebagai imunostimulan (Rastuati & Gultom, 2013). Pada kontrol immunosupresan memiliki nilai titer antibodi yang terkecil dibandingkan dengan kontrol negatif CMC-Na, hal ini disebabkan adanya aktivitas immunosupresan yang bekerja menurunkan sistem imun sehingga antibodi yang terbentuk rendah. Titer antibodi primer memiliki nilai yang lebih kecil dibandingkan titer antibodi sekunder pada kontrol positif imunostimulan maupun immunosupresan, dikarenakan jumlah antibodi primer yang dihasilkan masih rendah, sedangkan pada titer antibodi sekunder dapat menghasilkan nilai titer antibodi yang lebih tinggi sehingga diharapkan sistem imun yang dihasilkan semakin kuat (Suwartini *et al.*, 2018). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah kecombrang memiliki aktivitas imunomodulator berupa imunostimulan terhadap respon imun spesifik, ditandai dengan nilai pengenceran kelompok ekstrak lebih besar daripada kelompok kontrol negatif.

Uji fitokimia

Pengujian skrining fitokimia bertujuan untuk menetapkan senyawa yang terdapat dalam ekstrak metanol buah kecombrang. Uji fitokimia yang dilakukan merupakan golongan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Hasil uji skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol buah kecombrang

Pemeriksaan	Hasil Uji	Keterangan
Alkaloid	Dragendorff : adanya endapan merah	+
	Wagner : adanya endapan coklat	+
Saponin	Busa hilang sebelum 10 menit*	-
Tannin	Terbentuk warna hitam kehijauan	+
Flavonoid	Terdapat warna pada lapisan amil alkohol	+

Keterangan :

Positif (+) = mengandung senyawa

Negatif (-) = tidak mengandung senyawa

Penelitian sebelumnya menyebutkan terdapat kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, dan saponin pada buah kecombrang (Wahyuni, 2017). Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada tabel 2 dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol buah kecombrang memiliki kandungan golongan senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin. Efek imunostimulan yang terkandung dalam buah kecombrang didapatkan dari senyawa bioaktifnya antara lain flavonoid, alkaloid, dan tanin. Senyawa bioaktif flavonoid yang merupakan metabolit sekunder diduga memiliki aktivitas imunomodulator.

Flavonoid terbukti dapat meningkatkan sistem imun dengan cara memicu proliferasi pada limfosit, meningkatkan aktivitas IL-2 dan meningkatkan jumlah sel T (*Puspitaningrum et al.*, 2018), sedangkan senyawa alkaloid memiliki mekanisme sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan atom H pada radikal bebas. Hal ini menunjukkan bahwa alkaloid sebagai

antioksidan primer (Widiastini *et al.*, 2021). Imunostimulan yang terdapat pada tanin bekerja dengan meningkatkan sistem imun, sistem utama yang berperan penting dalam mekanisme pertahanan tubuh terhadap penyakit atau mikroba, selain itu senyawa tanin juga dapat meningkatkan aktivitas fagositosis dari makrofag dalam menyerang mikroba. Mekanisme senyawa tanin yaitu dapat merusak membran atau dinding sel sehingga dapat mengganggu permeabilitas dalam sel sehingga mengakibatkan sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya menjadi terhambat dan mati.

KESIMPULAN

Buah kecombrang (*Etlingera elantior* (Jack) R.M Smith) memiliki aktivitas imunomodulator terhadap respon imun spesifik terhadap mencit. Pada uji titer antibodi menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah kecombrang memiliki aktivitas imunomodulator sebagai imunostimulan, karena pada nilai titer antibodi yang dihasilkan lebih besar dari kontrol negatif CMC-Na. Buah kecombrang mengandung golongan senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, M. and Ariyanti, P.R. (2016). Manfaat gambir (*Uncaria gambir* Roxb) sebagai antioksidan. *Majority*, 5(3), pp. 129–133.
- Ahmad, A.R., Juwita, J., and Ratulangi, S.A.D. (2015). Penetapan kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak metanol buah dan daun patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), pp. 1–10. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i1.3481>.
- Djauzi, S. (2003). Peranan *Echinacea* sebagai imunomodulator dalam infeksi virus dan bakteri. *Jurnal Sains Teknologi Farmasi*, 8.
- Effendi, N. and Widiastuti, H. (2014). Identifikasi aktivitas imunoglobulin M (Ig.M) ekstrak etanolik daun ceplukan (*Physalis minima* Linn.) pada mencit. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), pp. 353–360.
- Faradilla, M. and Iwo, M.I. (2014). Efek imunomodulator polisakarida rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12(2), pp. 273–278.
- Gresinta, E. (2019). Uji potensi ekstrak daun *Etlingera hemisphaerica* terhadap leukosit *Mus musculus*, 1(1), pp. 476–483, <https://doi.org/10.30998/simponi.v0i0.476>.
- Harborne, J.B. (1996). *Metode Fitokimia Penurunan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB Press.
- Puspitaningrum, I., Franyoto, Y.D. and Munisih, S. (2018). Aktivitas imunomodulator ekstrak etil asetat daun som jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn) terhadap respon Imun Spesifik. *JIFFK: Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 15(2), 48-53. <https://doi.org/10.31942/jiffk.v15i2.2566>.
- Rastuati, M. and Gultom, E.S. (2013). Pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) sebagai imunostimulan terhadap titer antibodi dan leukosit pada tikus putih. *Jurnal Saintika*, 13(11), pp. 119–125.
- Rasyid, R.P. dan Pasoan, D. (2021). Gambaran pengetahuan masyarakat tentang penggunaan imunomodulator sebagai terpai peningkatan imunitas di kel. To'bulung kec. Bara kota Palopo. *Jurnal Kesehatan Luwu Raya*, 8(1), 99-106.

- Sebayang, L.B. and Hasibuan, A.S. (2021). Uji efek imunomodulator VCO (*Virgin Coconut Oil*) pada tikus jantan. *Jurnal Bios Logos*, 11(2), p. 139. <https://doi.org/10.35799/jbl.v11i2.35663>.
- Siswanti, E. and Marbun, R.A.T. (2022). Uji efektivitas imunomodulator ekstrak etanol buah rimbang (*Solanum torvum Swartz*) terhadap tikus jantan. *Jurnal Dunia Farmasi*, 6(2), pp. 84–95.
- Surahmaida, S. and Umarudin, U. (2019). Studi fitokimia ekstrak daun kemangi dan daun kumis kucing menggunakan pelarut metanol. *Indonesian Chemistry and Application Journal*, 3(1), 1-6. <https://doi.org/10.26740/ica.v3n1.p1-6>.
- Suwartini, N.K., Kencana, G.A.Y. and Suartha, I.N. (2018). Respon imun ayam petelur pascavaksinasi Newcastle Disease pada peternakan komersial di desa Denbantas, kecamatan Tabanan. *Indonesia Medicus Veterinus*, 7(3), pp. 185–193. <https://doi.org/10.19087/imv.2018.7.3.185>.
- Wahyuni, W. (2017). Potensi imunomodulator ekstrak etanol buah kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Smith) terhadap aktivitas fagositosis makrofag mencit jantan galur Balb/C'. *Pharmacon*, 6(3), pp. 350–355. <https://doi.org/10.35799/pha.6.2017.17211>
- Widiastini, L.P., Karuniadi, I.G.A.M. and Tangkas, M. (2021). Senyawa antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) di Denpasar Selatan Bali. *Media Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar*, 16(1), p. 135-139. <https://doi.org/10.32382/medkes.v16i1.2038>.