

## UJI AKTIVITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG DARI EKSTRAK KULIT BUAH JERUK NIPIS (*CITRUS AURANTIFOLIA*) SEBAGAI IMUNOMODULATOR

I Dewa Ayu Accyuta Kirana<sup>1\*</sup>, Widdhi Bodhi<sup>2</sup>, Julianri Sari Lebang<sup>3</sup>, Fatimawali<sup>4</sup>

Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Sam Ratulangi<sup>1,3</sup>

Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Sam Ratulangi<sup>2,4</sup>

\*Corresponding Author: yanakirana01@gmail.com

### ABSTRAK

Penyakit menular merupakan sebuah kondisi patologis yang menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas dunia, dimana diketahui angka tersebut akan terus meningkat dan berdampak pada penurunan angka harapan hidup seseorang, oleh karena itu perlu adanya upaya pencegahan peningkatan angka morbiditas maupun mortalitas penyakit ini. Kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) diketahui mengandung flavonoid sebagai senyawa metabolit sekunder yang berpotensi dalam meningkatkan aktivitas sistem kekebalan dengan mempengaruhi kerja imunitas tubuh dalam mengeleminasi patogen penyebab penyakit. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak kulit buah jeruk nipis yang dibagi atas beberapa variasi konsentrasi yaitu 0,1; 1, 10, 100, dan 1000 ppm. Penentuan adanya efek farmakologis ekstrak sebagai imunomodulator yaitu dengan melalui perhitungan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag tikus secara *in vitro* dengan menggunakan *Staphylococcus aureus* sebagai antigen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah jeruk nipis memiliki potensi sebagai imunostimulan, dimana setiap konsentrasi ekstrak dapat meningkatkan nilai aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag. Ekstrak kulit buah jeruk nipis pada konsentrasi 1000 ppm memiliki efek imunostimulan yang paling baik dan berbeda secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif *Phosphate Buffered Saline* (PBS) ( $p>0,05$ ) dengan nilai aktivitas dan kapasitas fagositosis berturut-turut sebesar 90,67% dan 4,31 serta tidak berbeda secara signifikan terhadap kontrol positif dengan konsentrasi 1000 ppm ( $p<0,05$ ).

**Kata kunci** : fagositosis, imunomodulator, kulit buah jeruk nipis, makrofag

### ABSTRACT

*Infectious disease is a pathological condition that caused global morbidity and mortality, it is known that these numbers will continue to increase and have an impact on reducing person's life expectancy, therefore efforts are needed to prevent the increasing numbers of morbidity and mortality. Lime peel (Citrus aurantifolia) is known contain flavonoids as secondary metabolites that potential to increase immune activity by influencing the work of the immune system in eliminating disease caused by pathogens. This research was conducted to determine the potential of lime peel extract as an immunomodulator with several concentration variations 0,1; 1; 10; 100; and 1000 ppm. The potential of lime peel extract as an immunomodulator is determined based on the result of the phagocytosis activity and capacity of macrophage cells that were collected from rats using in vitro with Staphylococcus aureus as antigen. The results showed that each concentration of the extract could increase the phagocytosis activity and capacity. Lime peel extract at a concentration of 1000 ppm had the best and significantly different immunostimulating effect compared to the negative control group Phosphate Buffered Saline (PBS) ( $p>0.05$ ) with phagocytosis activity and capacity values of 90.67% and 4.31. Also, it is not significantly different from the positive control with a concentration of 1000 ppm ( $p<0.05$ ).*

**Keywords** : immunomodulator, lime peel, macrophage, phagocytosis

### PENDAHULUAN

Penyakit menular adalah penyebab utama morbiditas dan mortalitas dunia, dimana tercatat bahwa hingga tahun 2019 diperkirakan terdapat 13,7 juta jiwa meninggal akibat penyakit yang

berhubungan dengan infeksi (Gray dan Sharara, 2022). Dari total kematian tersebut, 7,7 juta jiwa diantaranya disebabkan oleh infeksi bakteri patogen (Ikuta *et al.*, 2022). Menurut WHO (*World Health Organization*), mortalitas akibat penyakit infeksi akan meningkat menjadi sebanyak 16,5 juta pada tahun 2030 (Kementerian Kesehatan, 2019).

Selain itu, hingga tahun 2022 angka kejadian Covid-19 terus bertambah. Berdasarkan data ASEAN *BioDiaspora Virtual Center* (ABVC), tercatat bahwa hingga bulan Oktober 2022 Indonesia menduduki peringkat pertama angka kejadian kasus Covid-19 se-ASEAN. Menurut laman covid19.go.id, kasus Covid-19 di Indonesia per tanggal 30 November 2022 telah terkonfirmasi sebanyak 6.664.844 pasien dengan angka mortalitas sebanyak 159.830 orang. Peningkatan daya tahan tubuh merupakan salah satu upaya dalam pencegahan Covid-19 yaitu dengan mengkonsumsi suplemen (Galanakis, 2020). Jeruk nipis, dengan genus *Citrus*, diketahui merupakan tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai salah satu terapi alternatif terhadap Covid-19, dimana diketahui bahwa terdapat agen atau bahan aktif didalamnya yang berfungsi dalam meningkatkan imunitas tubuh yaitu flavonoid (Permatasari *et al.*, 2022). Menurut Pallavi *et al.* (2017), buah *Citrus* memiliki banyak senyawa bioaktif salah satunya adalah flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki fungsi sebagai imunostimulan dengan cara meningkatkan aktivitas fagositosis sel, oksidatif neutrofil dan merangsang sitotoksik sel (Sa'adah *et al.*, 2020). Diketahui juga bahwa kulit buah jeruk kaya akan senyawa flavonoid, senyawa flavonoid tersebut diantaranya adalah hesperidin dan naringin (Saini *et al.*, 2022). Hal ini juga ditambahkan oleh Mursyidah (2018), bahwa kulit buah jeruk nipis memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dimana hesperidin dan quercetin adalah turunan flavonoid yang terdapat pada kulit buah jeruk nipis yang memiliki kemampuan sebagai imunomodulator. Makrofag merupakan salah satu sel fagosit yang dapat ditingkatkan aktivitasnya dengan penggunaan suatu zat yang bersifat imunomodulator. Fagositosis makrofag adalah salah satu parameter penelitian imunomodulator yang sering dievaluasi, hal ini berhubungan dengan peran makrofag sebagai sel fagosit yang memiliki peran besar karena kemampuan fagositosisnya jauh lebih kuat dibandingkan sel fagosit lainnya (Istini dan Budisantoso, 2018). Pengujian aktivitas fagositosis merupakan suatu metode yang digunakan untuk melihat adanya efek imunomodulator yang diberikan suatu senyawa bioaktif yang diamati dari respon imunologis sel makrofag (Jensch-Junior *et al.*, 2006).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian dilakukan untuk mengetahui respon imunologis senyawa bioaktif dari kulit buah jeruk nipis yang memiliki potensi sebagai imunostimulan dengan melihat aktivitas dan kapasitas fagositosis yang diberikan dari respon imunologis sel makrofag secara *in vitro* dengan menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai antigen.

## METODE

Penelitian dilakukan di laboratorium mikrobiologi program studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi yang dilaksanakan pada bulan April hingga Mei 2023. Penelitian ini telah dinyatakan layak etik berdasarkan 7 standar WHO 2011. Alat yang digunakan terdiri atas hemositometer, oven, mikroskop, mikropipet, spatula, vial, peralatan gelas laboratorium (gelas ukur, tabung reaksi, *beaker glass*) peralatan bedah (bisturi, pinset) inkubator, toples kaca, *blender* dan spuit. Bahan yang digunakan terdiri atas etanol 70%, kulit buah jeruk nipis, suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, larutan PBS (*Phosphate buffered saline*), *trypan blue* 0,4%, giemsa, dinatrium EDTA ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ), barium klorida ( $\text{BaCl}_2$ ) 1%, *saline solution* ( $\text{NaCl}$  0,9%), aquadest, chlorofom,  $\text{NaCl}$  0,9%, asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 1%, dan Stimuno forte. Simplisia kulit jeruk nipis dihaluskan menjadi serbuk halus. Lalu, sebanyak 100 gram serbuk halus tersebut diekstraksi dengan metode maserasi yang dilarutkan ke dalam pelarut etanol 70% secukupnya di dalam wadah tertutup. Selanjutnya, wadah maserasi disimpan selama 24 jam sambil diaduk sesekali. Setelah itu, dilanjutkan pada

tahap penyaringan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari residu. Residu diekstraksi lagi dengan pelarut etanol 70% yang baru, perlakuan yang sama dilakukan selama 3×24 jam.

Untuk mengetahui aktivitas imunomodulator dilakukan perhitungan %aktivitas fagositosis dan kapasitas fagositosis sel makrofag, dimana nilai aktivitas fagositosis merupakan persentase sel makrofag yang aktif memfagositosis dari 100 sel makrofag

## HASIL

**Tabel 1. Data Perhitungan %Viabilitas Makrofag**

Replikasi	Jumlah Sel Makrofag Hidup	Jumlah Sel Makrofag Mati	Viabilitas Sel (%)
I	2.856	217	92,94
II	2.845	212	93,07
III	2.879	210	93,20
<b>Rata-rata</b>			<b>93.07</b>

Viabilitas sel dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan secara berturut-turut didapatkan hasil viabilitas sel sebesar 92,94%, 93,07% dan 93,20%, sehingga hasil perhitungan rata-rata viabilitas sel makrofag (**Tabel 1**) menunjukkan angka sebesar 93,07%.

**Tabel 2. ANOVA %Aktivitas Fagositosis Makrofag**

%Aktivitas Fagositosis					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5152.327	10	515.233	43.281	.000
Within Groups	261.893	22	11.904		
Total	5414.221	32			

Hasil uji ANOVA *One-Way* dari perhitungan %aktivitas fagositosis (**Tabel 2**) didapatkan nilai  $p < 0,000 < 0,05$  yang menunjukkan bahwa adanya perbedaan bermakna antar kelompok uji, kontrol positif dan kontrol negatif.

**Tabel 3. Hasil Pengujian *One-Way* ANOVA Kapasitas Fagositosis Makrofag**

Nilai Kapasitas Fagositosis					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17.602	10	1.760	116.058	.000
Within Groups	.334	22	.015		
Total	17.936	32			

**Tabel 4. Hasil Analisis Lanjutan Duncan %Aktivitas Fagositosis Makrofag**

Duncan <sup>a</sup>	Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05							
			1	2	3	4	5	6	7	8
	Kontrol Negatif	3	48.0667							
	Larutan Uji 0.1 ppm	3		60.3333						
	Kontrol (+) 0.1 ppm	3		63.6667	63.6667					
	Larutan Uji 1 ppm	3			67.3333					
	Kontrol (+) 1 ppm	3			69.0000	69.0000				
	Larutan Uji 10 ppm	3				73.6667	73.6667			
	Kontrol (+) 10 ppm	3					76.0000	76.0000		
	Larutan Uji 100 ppm	3						80.0000	80.0000	
	Kontrol (+) 100 ppm	3							82.6667	
	Larutan Uji 1000 ppm	3								90.6667
	Kontrol (+) 1000 ppm	3								91.3333
	Sig.		1.000	.249	.086	.112	.416	.170	.354	.815

Pada hasil uji ANOVA *One-Way* dari perhitungan kapasitas fagositosis (**Tabel 3**) didapatkan nilai  $p < 0,000 < 0,05$  yang menunjukkan bahwa adanya perbedaan bermakna antar kelompok uji, kontrol positif dan kontrol negatif. Dengan didapatkan hasil ANOVA *One-Way* yang menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna, sehingga kedua data aktivitas dan kapasitas fagositosis dilanjutkan dengan analisis lanjutan Duncan. Berikut merupakan hasil analisis lanjutan *Post Hoc Duncan Multiple Range Test*.

Hasil analisis lanjutan Duncan dari %aktivitas fagositosis makrofag (**Tabel 4**) menunjukkan bahwa kontrol positif dengan konsentrasi 1000 ppm merupakan konsentrasi terbaik dibandingkan dengan variasi konsentrasi kelompoknya dan kelompok uji lain dengan nilai 91,3333. Pada hasil kelompok larutan uji dengan konsentrasi 1000 ppm merupakan konsentrasi terbaik dibandingkan dengan variasi konsentrasi lain dari kelompoknya dengan nilai 90,6667. Selain itu, berdasarkan hasil analisis lanjutan Duncan, variasi konsentrasi larutan uji 1000 ppm dengan kontrol positif 1000 ppm tidak memiliki perbedaan secara signifikan.

**Tabel 5. Hasil Analisis Lanjutan Duncan Kapasitas Fagositosis Makrofag**

Duncan <sup>a</sup>									
Subset for alpha = 0.05									
Konsentrasi	N	1	2	3	4	5	6	7	8
Kontrol Negatif	3	1.9933							
Larutan Uji 0,1 ppm	3		2.4567						
Kontrol (+) 0,1 ppm	3		2.5433	2.5433					
Kontrol (+) 1 ppm	3			2.7333	2.7333				
Larutan Uji 1 ppm	3				2.7933				
Larutan Uji 10 ppm	3					3.0967			
Kontrol (+) 10 ppm	3						3.3100		
Larutan Uji 100 ppm	3							3.6333	
Kontrol (+) 100 ppm	3							3.7867	
Larutan Uji 1000 ppm	3								4.3067
Kontrol (+) 1000 ppm	3								4.3267
Sig.		1.000	.398	.072	.557	1.000	1.000	.142	.844

Hasil analisis lanjutan Duncan dari kapasitas fagositosis makrofag (**Tabel 5**) menunjukkan bahwa variasi konsentrasi larutan uji 1000 ppm merupakan konsentrasi terbaik dibandingkan dengan variasi konsentrasi pada kelompoknya dengan nilai 4,3067. Selain itu, didapatkan bahwa kontrol positif dengan konsentrasi 1000 ppm merupakan konsentrasi terbaik dibandingkan dengan variasi konsentrasi kelompoknya maupun kelompok uji lainnya dengan nilai 4,3267. Namun, berdasarkan (**Tabel 5**) didapatkan bahwa variasi konsentrasi kontrol positif 1000 ppm jika dibandingkan dengan variasi konsentrasi larutan uji 1000 ppm tidak memiliki perbedaan secara signifikan.

## PEMBAHASAN

Pengujian pada penelitian diawali dengan uji viabilitas sel. Uji viabilitas bertujuan untuk menentukan jumlah sel yang layak atau jumlah sel telah memenuhi syarat untuk dilakukan pengujian berikutnya (Markossian *et al.*, 2004). Pada hasil pengamatan viabilitas (**Gambar 1**) dengan menggunakan hemositometer, makrofag yang telah diisolasi dicampurkan dengan pewarna *trypan blue* dimana prinsip pewarnaan dengan *trypan blue* yaitu akan mewarnai sel yang telah mati, sedangkan sel yang masih hidup tidak akan terwarnai sebab membran selnya yang masih utuh mampu menahan zat asing (pewarna) (Bahi *et al.*, 2016). Pada penelitian digunakan tikus Jantan, hal ini didukung oleh pernyataan McGlade *et al.* (2022) yaitu hormon progesteron pada betina terbukti menjadi inhibitor sel pro-inflamasi. Makrofag sendiri

merupakan sel pro-inflamasi yang dapat terinduksi oleh produk bakteri seperti lipopolisakarida (LPS) (Das *et al.*, 2015).

Dari hasil pengamatan yang dilakukan, dihitung viabilitas sel makrofag dan didapatkan hasil sebesar 93,07%. Hal ini menunjukkan bahwa viabilitas sel makrofag yang telah diisolasi dari peritoneum tikus memenuhi syarat untuk dilanjutkan pada uji sel berikutnya, dimana syarat viabilitas sel makrofag tidak kurang dari 70% (Sugiartanti dan Salasia, 2017). Hasil perhitungan nilai % Viabilitas dapat dilihat pada Tabel 1. Pada pengujian aktivitas dan kapasitas fagositosis, Penentuan aktif atau tidaknya sel makrofag yaitu berdasarkan pada bentuk dan ukuran sel. Makrofag aktif akan bertambah besar, dimana fagosom, lisosom, aparat golgi dan retikulum endoplasma akan berkembang, sehingga akan nampak struktur dalam sel makrofag membesar, sedangkan makrofag tidak aktif ditandai dengan bentuk dan ukuran yang lebih kecil (Bratawijaya dan Rengganis, 2014).

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan dalam penelitian, dilakukan analisis data untuk melihat adanya perbedaan beberapa kelompok rata-rata, dimana terdiri atas satu variabel bebas dan satu variabel terikat (Widiyanto, 2013), sehingga digunakan analisis data dengan *One-Way* ANOVA dimana variabel bebas dalam penelitian ini yaitu konsentrasi ekstrak kulit buah jeruk nipis dan variabel terikat yaitu aktivitas atau kapasitas fagositosis makrofag. Kemudian, pada Tabel 2 dan Tabel 3 merupakan hasil *One-Way* ANOVA, dimana baik pada data aktivitas maupun kapasitas fagositosis menunjukkan bahwa rata-rata kelompok pengujian terdapat perbedaan secara signifikan dengan nilai  $p < 0,05$ . Oleh karena itu, dilakukan pengujian lanjutan untuk membandingkan rata-rata antar kelompok perlakuan yang dapat dilihat pada Tabel 4 dan Tabel 5.

Berdasarkan hasil analisis lanjutan Duncan aktivitas fagositosis (Tabel 4) menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi kontrol positif dan ekstrak kulit buah jeruk nipis menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan kontrol negatif. Pada hasil analisis statistik Duncan kapasitas fagositosis (Tabel 5), baik kelompok larutan uji dan kontrol positif menunjukkan kenaikan kapasitas fagositosis dibandingkan kontrol negatif. Sedangkan perbandingan antara sampel ekstrak kulit buah jeruk nipis dibandingkan kontrol positif (Stimuno forte ) dengan konsentrasi yang sama yaitu tidak ada perbedaan bermakna, hal ini menunjukkan bahwa kenaikan kapasitas fagositosis ekstrak dibandingkan dengan kontrol positif adalah sama.

Peningkatan tertinggi nilai aktivitas dan kapasitas fagositosis berdasarkan analisis lanjutan Duncan yaitu pada kontrol positif dengan konsentrasi 1000 ppm. Stimuno forte diketahui mengandung ekstrak meniran yang telah diuji berkhasiat dalam meningkatkan imunitas tubuh (Aldi *et al.*, 2014). Pada kontrol negatif didapatkan nilai aktivitas dan kapasitas fagositosis, hal ini menunjukkan bahwa adanya respon dari imunitas non-spesifik yaitu makrofag. Imunitas non-spesifik merupakan sistem imun alamiah yang telah didapatkan sejak lahir (Yu *et al.*, 2018), sehingga nilai aktivitas dan kapasitas fagositosis yang didapatkan merupakan respon alami oleh sel makrofag sebagai imunitas non-spesifik terhadap paparan patogen *Staphylococcus aureus* yang diberikan pada pengujian.

Peningkatan nilai aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag diduga karena adanya kandungan senyawa yang bersifat imunostimulan pada ekstrak kulit jeruk nipis yaitu flavonoid. Pada penelitian sebelumnya oleh Ramadhan (2018) dengan sampel pada genus yang sama yaitu Citrus, didapatkan bahwa sampel ekstrak lemon (*Citrus lemon*) memiliki kemampuan imunostimulan dengan adanya peningkatan aktivitas makrofag yang dipengaruhi oleh senyawa flavonoid. Dalam menjalankan perannya sebagai sistem kekebalan bawaan tubuh, makrofag dapat dikategorikan menjadi dua berdasarkan aktivasinya yaitu M1 (Aktivasi klasik) dan M2 (Aktivasi alternatif). Aktivasi makrofag M1 (Makrofag pro-inflamasi) dapat diaktifkan dengan rangsangan sitokin IFN- $\gamma$ , yang selanjutnya secara berurutan akan mensekresikan sitokin lain (TNF-alpha, IL-1, IL-6 dan IL-12) dan Nitrit Oxide (NO), dimana makrofag pro-inflamasi merupakan makrofag yang memiliki peran sebagai sel fagosit patogen (Han *et al.*, 2021). Dalam

mekanismenya, flavonoid akan memengaruhi proliferasi limfosit yang menyebabkan sel Th1 teraktivasi dan memengaruhi SMAF (*Specific Macrophage Activating Factor*). Molekul SMAF seperti IFN- $\gamma$  akan mengaktifkan makrofag, sehingga akan terjadinya peningkatan aktivitas fagositosis dari sel makrofag M1 (Sulistiani dan Rahayiningsih, 2015). Selain itu, flavonoid diketahui dapat mengaktifasi sel *Natural Killer* (sel NK) dalam merangsang sintesis IFN-  $\gamma$  (Susilo *et al.*, 2013).

## KESIMPULAN

Ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memiliki potensi sebagai imunostimulan berdasarkan peningkatan nilai aktivitas maupun kapasitas fagositosis dibandingkan kontrol negatif dengan nilai aktivitas dan kapasitas fagositosis berturut-turut sebesar 90,67% dan 4,31. Peningkatan dosis pada sampel ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) berbanding lurus dengan peningkatan terhadap nilai aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag dengan kemampuan optimal sebagai imunostimulan pada konsentrasi 1000 ppm.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan arahan atas penyusunan karya ilmiah dan kepada orang tua atas doa dan dukungan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aldi, Y., Rasyadi, Y. dan Handayani, D. (2014) 'Aktivitas Imunomodulator dari Ekstrak Etanol Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) terhadap Ayam Broiler', *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 1(1), pp. 20-26.
- ASEAN BioDiaspora Virtual Center (2022) COVID-19, Monkeypox, and Other Infectious Diseases: Situational Report in the ASEAN+3 Region. ASEAN BioDiaspora Virtual Center Situational Report.
- Bahi, M., Jacob, C. dan Khairan, K. (2016) 'Efek Sitotoksik Haarlem Oil Terhadap HL-60 *Cell Line* dan *Steinernema feltiae*', *Jurnal Kedokteran Hewan*, 10(2), pp. 109-114.
- Bratawijaya, K.G. dan Rengganis (2014) *Imunologi Dasar*. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Ilmu Kedokteran Universitas Indonesia.
- Das, A., Sinha, M., Datta, S., Abas, M., Chaffee, S., Sen, C.K., dan Roy, S. (2015) 'Monocyte and Macrophage Plasticity in Tissue Repair and Regeneration', *A, J Pathol*, 185, pp. 2596-2606.
- Haeria, Tahar, N. dan Ramadhani, N.H. (2017) 'Uji Efektivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Korteks Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* Hout. Merr.) terhadap Aktivitas dan kapasitas Fagositosis Makrofag pada Mencit (*Mus musculus*) Jantan', *JF FIK UINAM*, 5(4), pp. 294-302.
- Hariyanti, Sunaryo, H. dan Nurlaily, S. (2015) 'Efek Imunomodulator Fraksi Etanol dari Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) berdasarkan Peningkatan Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritoneum secara In Vitro', *Jurnal Pharmacy*, 12(1), pp. 58-69.
- Istini dan Santoso, B. (2018) 'Pengaruh Penambahan Serum dan lama Waktu Inkubasi Lateks terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag Tikus Sprague Dawley (SD) dalam Menunjang Kegiatan Penelitian', *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(1), pp. 16-22.

- Kementerian Kesehatan (2019) *Buku Pedoman Manajemen Penyakit Tidak Menular*. Jakarta: Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Tidak Menular.
- Markossian, S., et al. 2004. *The Assay Guidance Manual*. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences.
- Marusin, S., dan 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); pp. 38-44.
- McGlade, E.A., Miyamoto, A. dan Winuthayanon, W. 2022. Progesterone an Inflammatory Response in the Oviduct during Physiological and Pathological Conditions, *Cells*, 11(1075), pp. 1-18.
- Mursyidah, Azizah (2018) *Pengaruh Rebusan Kulit Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia s.) Terhadap Ketebalan Epitel pada Luka Pasca Pencabutan Gigi Tikus Putih (Rattus norvegicus) Strain Wistar*. Undergraduate Skripsi. Malang: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
- Musdalifah (2016) *Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) sebagai Insektisida Hayati terhadap Nyamuk Aedes aegypti*. Undergraduate Skripsi. Makassar: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
- Pallavi, M., Ramesh, C.K., Krishna, V., Parveen, S. dan Swamy, N.L. (2017) 'Quantitative Phytochemical Analysis and Antioxidant Activities of Some Citrus Fruits of South India', *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(12), pp. 198-205.
- Permatasari, S., Munthe, E.A, Teresa, A. dan Aryati, F. (2022) 'Pemanfaatan Tanaman Obat Keluarga sebagai Minuman Penguat Imunitas Tubuh di RT 04 Kelrahan Bereng Pulang Pisau', *Jurnal Ilmiah Pengabdian kepada Masyarakat*, 7(3), pp. 376-382.
- Ramadhan, A.T.K. (2018) *Uji Aktivitas Ekstrak Lemon (Citrus limon) sebagai Immunomodulator pada Sistem Imunitas Mencit Model Balb/C*. Undergraduate Skripsi. Malang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.
- Sa'adah, N.N., Indiani, A.M., Nurhayati, A.P.D dan Ashuri, N.M. (2020) 'Bioprospecting of Parijoto Fruit Extract (*Medinilla speciosa*) as Antioxidant and Immunostimulant: Phagocytosis Activity of Macrophage Cells', *AIP Conference Proceedings*, 2260 (1).
- Saini, R.K., Ranjit, A., Sharma, K., et al. (2022) 'Bioactive Compounds of Citrus Fruits: A Review of Composition and Health Benefits of Carotenoids, Flavonoids, Limonoids, and Terpenes', *Antioxidants*, 11(2), pp. 1-27.
- Sugiartanti, D.D. dan Salasia, S.I.O. (2017) 'Kemampuan Fagositosis Sel Makrofag Terhadap *Staphylococcus aureus* Isolat Ayam dengan Oponisasi Secara *In Vitro*', *Prosifing Seminar Nasiona Hayati*.
- Sugiyarto. (2015) *Dasar-dasar Statistik Farmasi*. Yogyakarta: Binafsi Publisher.
- Susilo J., Erwiyani, A.R, dan Awwalia, N. (2013) *Aktivitas Immunomodulator Ekstrak Etanol Daun Jamblang (Syzgium cumini (L) Skeel) Terhadap Respon Immun Non Spesifik pada Mencit Jantan Galur Balb/c*. Undergraduate Skripsi. Semarang: STIKES Ngudi Waluyo Ungaran.
- Wahyuni, Yusuf, M.I., Malik, F., Lubis, A.F, Indalifiany, A., dan Sahidin, I. (2019) 'Efek Immunomodulator Ekstrak Etanol Spons *Melophlus sarasinorum* terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag pada Mencit Jantan Balb/C', *Galenika Journal of Pharmacy*, 5(2), pp. 147-157.
- Widiyanto, A. (2013) *Statistika Terapan: Konsep dan Aplikasi dalam Penelitian Bidang Pendidikan, Psikologi dan Ilmu Sosial Lainnya*. Jakarta: PT Alex Media Komputindo.
- Yu, J.C., Khodadadi, H., Malik A., et al. (2018) 'Innate Immunity of Neonates and Infants', *Frontiers in Immunology*, 9(1759), pp. 1-12.