

**UJI EFEK IMUNOMODULATOR EKSTRAK ETANOL DAUN
CEMPEDAK (*Artocarpus integer*) PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR
WISTAR YANG DIINDUKSI *Salmonella thypimurium***

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm.) di bidang studi Farmasi pada Fakultas MIPA**



Oleh :

MUTIARA FATMALILLAH

08061381722096

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

2021

HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL

Judul Makalah Hasil : UJI EFEK IMUNOMODULATOR EKSTRAK ETANOL
DAUN CEMPEDAK (*Artocarpus integer*) PADA TIKUS
PUTIH JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI
Salmonella typhimurium
Nama Mahasiswa : MUTIARA FATMALILLAH
NIM : 08061381722096
Jurusan : FARMASI

Telah dipertahankan dihadapan Pembimbing dan Pembahas pada Semiar Hasil di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 27 Juli 2021 dan telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan

Inderalaya, 05 Agustus 2021

Pembimbing:

1. Fitrya, M. Si., Apt (.....)
NIP. 197212101999032001
2. Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt (.....)
NIP. 198711272013012201

Pembahas:

1. Prof. Dr. Muharni, M.Si (.....)
NIP. 196903041994122001
2. Annisa Amriani S,M.Farm., Apt (.....)
NIP. 198412292014082201
3. Dr. Hj. Budi Untari, M.Si., Apt (.....)
NIP. 195810261987032002



Dr. rer. nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP. 197103101998021002

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Makalah Hasil : UJI EFEK IMUNOMODULATOR EKSTRAK ETANOL DAUN
CEMPEDAK (*Artocarpus integer*) PADA TIKUS PUTIH JANTAN
GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI *Salmonella typhimurium*
Nama Mahasiswa : MUTIARA FATMALILLA
NIM : 08061381722096
Jurusan : FARMASI

Telah dipertahankan dihadapan Pembimbing dan Pembahas pada Semiar Hasil di
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada
tanggal 16 September 2021 dan telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui sesuai dengan saran
yang diberikan

Indralaya, 24 September 2021

Ketua:

1. Fitrya, M. Si., Apt
NIP. 197212101999032001



(.....)

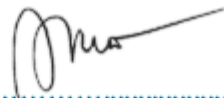
Anggota:

1. Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt
NIP. 198711272013012201



(.....)

2. Prof. Dr. Muharni, M.Si
NIP. 196903041994122001



(.....)

3. Annisa Amriani S,M.Farm., Apt
NIP. 198412292014082201



(.....)

4. Dr. Hj. Budi Untari, M.Si., Apt
NIP. 195810261987032002



(.....)



Mardiyanto,
Ketua Jurusan Farmasi Fakultas MIPA, Unsri



Dr. Per.naf Mardiyanto, M.Si., Apt
NIP. 197103101998021002

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Mutiara Fatmalillah

NIM : 08061381722096

Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, September 2021

Penulis,



Mutiara Fatmalillah

NIM. 08061381722096

**HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama Mahasiswa : Mutiara Fatmalillah
NIM : 08061381722096
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-eksklusif” (*non-exclusively royalty-freeright*) atas karya ilmiah saya yang berjudul: “Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Cempedak (*Artocarpus integer*) terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang diinduksi *Salmonella typhimurium*” beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini, Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, September 2021

Penulis,



Mutiara Fatmalillah

NIM. 08061381722096

HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang)

Skripsi ini saya persembahkan kepada Alm Ayah, Ebok, Kakak dan Adik Tercinta, Keluarga Besar, Dosen, Almamater, Sahabat serta Para Pejuang Ilmu Pengetahuan.

“For indeed, with hardship [will be] ease. Indeed, with hardship [will be] ease”
(Qur’an 94: 5-6)

“Perhaps you hate a thing but it is good for you; and perhaps you love a thing but it is bad for you. Allah knows, while you know not”
(Qur’an 2:216)

Motto:

Nulla tenaci in via est via.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulis akhirnya dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul "Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Cempedak (*Artocarpus integer*) terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang diinduksi *Salmonella typhimurium*" Shalawat teriring salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi besar Muhammad Shallallahu'alaihi Wasallam. Penyusunan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) pada Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Allah Subhanahu wa ta'ala, berkat kehendak dan izin-Nya lah sehingga penulis dan menyelesaikan skripsi ini.
2. Kedua orang tua penulis, (Alm) Ayah Zulkardinal D.S dan Ibu Sukidjah, Kedua Kakak Merliana dan Mona Wulandari, adikku Maulia Nurul Fallah, Serta Kedua Kakak Ipar Herry Suriyadi P. dan Dedi Antoni. Keponakanku Kayiin, Bibing dan Haikal, terimakasih atas seluruh cinta, kasih sayang, doa, semangat, dukungan, dan nasihat sehingga penulis dapat menyelesaikan masa perkuliahan dan penyusunan skripsi.
3. Ibu Fitriya, M.Si., Apt selaku dosen pembimbing pertama sekaligus pembimbing akademik dan Ibu Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt selaku dosen pembimbing kedua atas seluruh ilmu, waktu, bimbingan, semangat, doa, saran dan nasihat yang telah diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
4. Ibu Prof. Dr. Muharni, M.Si, Annisa Amriani S,M.Farm., Apt dan Dr. Hj. Budi Untari, M.Si., Apt. selaku dosen pembahas atas masukan dan saran yang telah diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
5. Bapak Dr.rer.nat.Mardiyanto, M.Si., Apt. selaku kepala jurusan Farmasi atas sarana dan prasarana serta dukungan yang telah diberikan kepada penulis sehingga penulisan skripsi ini berjalan lancar.

6. Seluruh dosen Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, atas semua ilmu, saran dan nasihat yang telah diberikan kepada penulis sejak awal perkuliahan dan selama penyusunan skripsi ini.
7. Seluruh staf (Kak Erwin dan Kak Ria) dan analis laboratprium (Kak Tawan, Kak Isti, dan Kak Fitri) Jurusan Farmasi FMIPA yang telah memberikan banyak bantuan sehingga penulis bisa menyelesaikan penelitian dengan lancar.
8. Teman seperjuangan penelitian Uji Efek Imunomodulator Evania Anggraini atas atas waktu, bantuan, nasihat semangat, motivasi serta menjadi pendengar keluh kesah yang sangat baik hingga penyusunan skripsi ini selesai.
9. Muhammad Aldian Rasyid yang selalu menemani dan memberikan semangat tak terhingga dalam menyelesaikan tugas akhir.
10. Sahabat terbaik selama perkuliahan Elvida Purnama Sari dan Ensa Octara, terimakasih telah selalu ada dan selalu menjadi pendengar yang baik.
11. Para squad Kost Pegagan, Ita Nuritasari dan Nevti Sundari, terimakasih atas segala bantuan, semangat dan motivasi yang telah diberikan.
12. Squad Artocarpus dan KLT, Meimei, Venny, Mella serta Hannan dan Arum atas bantuan, motivasi serta nasihat kepada penulis.
13. Kakak asuh tercinta Zella Pebriani dan adik tersayang Ridha Safira Agoes atas segala bantuan, semangat, motivasi serta telah menjadi pendengar yang baik.
14. Sahabat Farmasi 2017, terkhusus teman Farmasi 17B Adiset atas bantuan dan informasi yang telah diberikan.
15. Sahabat tercinta Cindy, Nova, Nissa, Rara, Iga dan Andri terimakasih telah selalu memberikan semangat serta motivasi selama ini.
16. Kakak-kakak Farmasi 2013, 2014, 2015, 2016 dan adik-adik 2018, 2019, dan 2020 semoga sukses selalu.
17. Seluruh pihak yang banyak terlibat membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Semoga Allah Subhanahu wa ta'ala memberikan balasan yang berlipat ganda kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan. Penulis sangat berharap kritik dan saran yang membangun dari pembaca untuk perbaikan

selanjutnya. Hanya kepada Allah SWT penulis menyerahkan segalanya, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan seluruh pembaca.

Inderalaya, 27 September 2021

Penulis,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Mutiara Fatmalillah', written in a cursive style.

Mutiara Fatmalillah

NIM. 08061381722096

Immunomodulatory Effect Ehtanol Extract of Cempedak Leaves (*Artocarpus integer*) agains Male White Rats Wistar Strain Induced by *Salmonella typhimurium*

Mutiara Fatmalillah

08061381722096

ABSTRACT

Cempedak (*Artocarpus integer*) leaves contain phenolic and flavonoid compounds that have the ability to stimulate specific and nonspecific immune responses. This study aims to determine the immunomodulatory effects ethanol extract of Cempedak leaves against white rats induced *Salmonella typhimurium*. Immunity parameters measured were level leukocytes, lymphocytes, monocytes, neutrophils, CD4 T cells, macroscopic and histopathology of the spleen. The white rats were divided into six groups. Normal (0.5 mL/kgBW Na-CMC), positive control (Stimuno), negative control (0.5 mL/kgBW Na-CMC), and the treatment groups with a therapeutic dose 200 mg/kgBW, 400mg/kgBW, and 600 mg/kgBW. *S. typhimurium* was injected intraperitoneally on day 8 with a dose 0.5 mL x 10⁵ CFU/mL in all treatment group except the normal. Total phenolic content in the ethanol extract of cempedak leaves is 331.20 ± 17.96 mgGAE/g and total flavonoid content is 82.52 ± 4.55 mgQE/g extract. The result showed ethanol extract of cempedak leaves dose 600 mg/kgBW can increased the number of T CD4, leukocytes, lymphocytes monocytes and neutrophils compared to normal group. The higher the dose given, the less severe the necrosis.

Keywords : *Artocarpus integer*, *Salmonella typhimurium*, immunomodulator, T CD4 cells, spleen

Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Cempedak (*Artocarpus integer*) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi *Salmonella typhimurium*

Mutiara Fatmalillah

08061381722096

ABSTRAK

Daun cempedak (*Artocarpus integer*) mengandung senyawa meliputi fenolik dan flavonoid yang memiliki kemampuan menstimulasi respon imunitas spesifik dan nonspesifik. Penelitian bertujuan untuk mengetahui efek imunomodulator ekstrak etanol daun cempedak pada tikus yang diinduksi *Salmonella typhimurium*. Parameter imunitas yang diamati adalah jumlah leukosit, limfosit, monosit, neutrofil, sel T CD4, makroskopis dan histopatologi organ limpa. Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan yaitu kelompok normal (0.5 mL/kgBB Na-CMC), kontrol positif (Stimuno), kontrol negatif (0.5 mL/kgBB Na-CMC), dan kelompok pemberian ekstrak dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, dan 600 mg/kgBB. Penginjeksian *S. typhimurium* dilakukan terhadap semua kelompok perlakuan kecuali kelompok normal. Penginjeksian dilakukan secara intraperitoneal pada hari ke 8 dengan dosis 0.5 mL x 10⁵ CFU/mL. Kadar total fenolik pada ekstrak etanol daun cempedak sebesar 331.20 ± 17.96 mgGAE/g dan kadar total flavonoid sebesar 82.52 ± 4.55 mgQE/g ekstrak. Ekstrak etanol daun cempedak dosis 600 mg/kgBB dapat meningkatkan jumlah sel T CD4, leukosit, limfosit, monosit dan neutrofil pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi *S. typhimurium* dibandingkan kelompok normal. Semakin tinggi dosis yang diberikan semakin menurunkan tingkat keparahan nekrosis.

Kata kunci : *Artocarpus integer*, *Salmonella typhimurium*, imunomodulator, sel TCD4, limpa.

DAFTAR ISI

	Halaman
Cover	ii
HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRACT.....	x
ABSTRAK.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
DAFTAR ISTILAH	xix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tanaman Cempedak (<i>Artocarpus integer</i>).....	4
2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi.....	4
2.1.2 Kandungan Senyawa Kimia dan Khasiat	5
2.1.3 Metode Maserasi.....	6
2.2 Sistem Imun.....	7
2.2.1 Respon Imun Nonspesifik.....	7
2.2.1.1 Pertahanan Fisik	7
2.2.1.2 Pertahanan Biokimia	8
2.2.1.3 Pertahanan Humoral	8
2.2.1.4 Pertahanan Selular	8
2.2.2 Sistem Imun Spesifik.....	10
2.2.2.1 Humoral.....	10
2.2.2.2 Selular.....	10
2.3 Imunomodulator	11
2.4 Bakteri <i>Salmonella typhimurium</i> (<i>S. typhimurium</i>).....	12

BAB III	METODOLOGI PENELITIAN	14
3.1	Waktu dan Tempat	14
3.2	Alat dan Bahan	14
3.2.1	Alat	14
3.2.2	Bahan	14
3.2.3	Hewan Uji dan Bakteri Penginduksi.....	15
3.3	Prosedur Penelitian	15
3.3.1	Preparasi Ekstrak Etanol Daun Cempedak.....	15
3.3.2	Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Cempedak.....	15
3.3.2.1	Identifikasi Fenolik dan Flavonoid Menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis).....	15
3.3.2.2	Penetapan Total Fenolik.....	16
3.3.2.2.1	Pembuatan Larutan Uji	16
3.3.2.2.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	16
3.3.2.2.3	Pembuatan Kurva Baku	16
3.3.2.2.4	Penetapan Kadar Fenolik Total.....	17
3.3.2.3	Penetapan Total Flavonoid.....	17
3.3.2.3.1	Pembuatan Larutan Uji	17
3.3.2.3.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	17
3.3.2.3.3	Pembuatan Kurva Baku	18
3.3.2.3.4	Penentuan Kadar Flavonoid Total	18
3.3.3	Pengkondisian dan Rancangan Percobaan Hewan Uji.....	18
3.3.4	Preparasi Sediaan Uji.....	19
3.3.5	Preparasi Agen Penginduksi.....	20
3.3.6	Perlakuan Hewan Uji.....	20
3.3.7	Evaluasi Total Leukosit	21
3.3.8	Persentase Monosit, Limfosit, dan Neutrofil.....	21
3.3.9	Evaluasi Jumlah Sel T CD4.....	21
3.3.10	Euthanasi dan Pembedahan Hewan Uji.....	22
3.3.11	Evaluasi Makroskopik Limpa.....	22
3.3.12	Evaluasi Mikroskopik Limpa	22
3.4	Analisis Data	24

BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1	Identifikasi Tanaman	25
4.2	Preparasi Ekstrak Etanol Daun Cempedak.....	25
4.3	Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Cempedak.....	26
4.3.2	Identifikasi Fenolik dan Flavonoid Menggunakan KLT ...	26
4.3.3	Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Cempedak.....	28
4.3.4	Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Cempedak.....	30
4.4	Pemberian Sediaan dan Penginduksian Hewan Uji.....	32
4.5	Pengukuran Suhu Tubuh Tikus	33
4.6	Pemeriksaan Parameter Imunitas Tubuh	35
4.6.1	Evaluasi Total Leukosit	36
4.6.2	Persentase Monosit, Limfosit, dan Neutrofil.....	38
4.6.3	Evaluasi Jumlah sel T CD4.....	42
4.6.4	Evaluasi Makroskopik Limpa.....	44
4.6.5	Evaluasi Mikroskopik Limpa	47
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	51
5.1.	Kesimpulan.....	51
5.2.	Saran	51
DAFTAR PUSTAKA		52
LAMPIRAN.....		59
DAFTAR RIWAYAT HIDUP		100

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Gambar Tanaman Cempedak	5
Gambar 2. Struktur flavonoid yang diisolasi dari tanaman cempedak.	6
Gambar 3. Kromatogram identifikasi fenolik	26
Gambar 4. Reaksi senyawa fenolik dengan FeCl_3	27
Gambar 5. Kromatogram identifikasi flavonoid	27
Gambar 6. Reaksi flavonoid dengan	28
Gambar 7. Kurva Baku Asam Galat	29
Gambar 8. Reaksi senyawa fenolik dengan reagen folin-ciocalteu	30
Gambar 9. Kurva Baku Kuersetin	31
Gambar 10. Limfosit, monosit, dan neutrofil.....	39
Gambar 11. Makroskopik Limpa	46
Gambar 12. Hasil Pengamatan Histopatologi Limpa.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kelompok hewan uji	19
Tabel 2. Hasil pengukuran bobot tikus	32
Tabel 3. Hasil pengukuran suhu tubuh tikus.....	34
Tabel 4. Rata-rata jumlah leukosit	36
Tabel 5. Rata-rata jumlah sel sebenarnya	40
Tabel 6. Hasil pengukuran jumlah sel T CD4.....	43
Tabel 7. Hasil pengamatan patologi anatomi organ limpa.....	45
Tabel 8. Data Hasil Evaluasi Mikroskopis Limpa	48
Tabel 9. Absorbansi Asam Galat	77
Tabel 10. Absorbansi ekstrak etanol daun cempedak	78
Tabel 11. Absorbansi Kuersetin	79
Tabel 12. Absorbansi ekstrak etanol daun cempedak	80

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat Identifikasi Tanaman Cempedak	59
Lampiran 2. Sertifikat Kode Etik	60
Lampiran 3. Sertifikat Hewan Uji	61
Lampiran 4. Skema Kerja Umum	62
Lampiran 5. Preparasi Ekstrak Etanol Daun Cempedak	63
Lampiran 6. Karakterisasi Ekstrak (Penetapan Total Fenolik)	64
Lampiran 7. Karakterisasi Ekstrak (Penetapan Total Flavonoid)	65
Lampiran 8. Perhitungan Jumlah Hewan Uji pada Tiap Kelompok	66
Lampiran 9. Persiapan Hewan Uji dan Desain Penelitian	67
Lampiran 10. Konversi Dosis dan Perhitungan Dosis Pemberian Sediaan	68
Lampiran 11. Evaluasi Total Leukosit	71
Lampiran 12. Penentuan Persentase Monosit, Limfosit, dan Neutrofil	72
Lampiran 13. Evaluasi Jumlah Sel T CD4	73
Lampiran 14. Evaluasi Makroskopik Limpa	74
Lampiran 15. Evaluasi Mikroskopik Limpa	75
Lampiran 19. Perhitungan Nilai Rendemen Ekstrak Etanol Daun Cempedak	76
Lampiran 20. Perhitungan Kadar Total Fenolik	77
Lampiran 21. Perhitungan Kadar Total Flavonoid	79
Lampiran 22. Data Hasil Parameter Imunitas	81
Lampiran 23. Uji Statistik Jumlah Sel Leukosit	84
Lampiran 24. Uji Statistik Jumlah Sel Limfosit	87
Lampiran 25. Uji Statistik Jumlah Sel Monosit	90
Lampiran 26. Uji Statistik Jumlah Sel Neutrofil	93
Lampiran 27. Uji Statistik Bobot Limpa	96
Lampiran 28. Gambar Penelitian	98

DAFTAR SINGKATAN

AlCl ₃	: Alumunium Klorida
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
ATCC	: American Type Culture Collection
CD	: <i>Cluster of Differentiation</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
CH ₃ COOHNa	: Natrium Asetat
EDTA	: <i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>
FeCl ₃	: Besi (III) Klorida
GAE	: <i>Gallic Acid Equivalent</i>
HSG	: <i>Hyperimmune Serum Globulin</i>
IFN	: Interferon
IL	: Interleukin
ip	: Intraperitoneal
ISG	: <i>Immune Serum Globulin</i>
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
LAK	: Lymphokine Activated Killer cell
LPS	: Lipopolisakarida
MHC	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
mL	: Milimeter
Na ₂ CO ₃	: Natrium Karbonat
NaCl	: Natrium Klorida
NaCMC	: Natrium Karboksimetil Selulosa
NK	: <i>Natural Killer</i>
nm	: Nanometer
PMNs	: <i>Polymorphonuclear Leucocytes</i>
po	: peroral
ppm	: <i>part per million</i>
Sel Th	: Sel T <i>helper</i>
TNF	: <i>Tumor Nekrosis Factor</i>
UV	: Ultraviolet

DAFTAR ISTILAH

Aklimatisasi	: penyesuaian diri dengan lingkungan, iklim, kondisi, atau suasana baru
Antibodi	: zat yang dibentuk untuk memusnahkan antigen
Antigen	: zat yang dapat bertindak sebagai toksin
Denaturasi	: proses pemecahan protein
Fagositosis	: proses seluler dari fagosit untuk menelan partikel
Hemosiderin	: kompleks Fe dalam makrofag
Histiosit	: jenis makrofag yang berada dalam jaringan ikat
Hiperplasi	: peningkatan jumlah sel
Hipertrofi	: peningkatan ukuran sel
Imunomodulator	: senyawa yang dapat memodulasi respon imun spesifik dan atau non spesifik
Imunostimulan	: senyawa yang dapat meningkatkan respon imun
Imunosupresan	: senyawa yang dapat mengurangi respon imun
Inflamasi	: peradangan diakibatkan respon dari sistem imun
Interleukin	: sekelompok protein yang disekresikan sebagai sinyal untuk mengaktivasi sistem imun
Lisis	: peristiwa pecah atau kerusakan integritas membrane sel dan mengakibatkan organel sel keluar
Maserasi	: Teknik pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan
Mitogen	: Senyawa organik yang berperan dalam menstimulasi proses mitosis
Nekrosis	: Kematian sel akibat adanya cedera
Pirogen	: Substansi penyebab demam
Preparat	: Objek yang diamati pada mikroskop
Proliferasi	: Fase siklus sel tanpa adanya hambatan
Remaserasi	: Proses pengulangan maserasi dengan penggantian pelarut
Simplisia	: Bahan alami sebagai obat yang telah dikeringkan
Splenitis	: Peradangan pada organ limpa

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salmonella typhi merupakan patogen penyebab demam tifoid yaitu infeksi akut pada usus halus (Hardianto, 2019). Penyebaran penyakit ini terjadi sepanjang tahun dan banyak dijumpai terutama di negara berkembang (Cita, 2010). Infeksi penyakit ini ditularkan secara oral, biasanya disebabkan karena mengkonsumsi makanan ataupun minuman yang telah terkontaminasi (Paul, 2017). Tingkat keparahan infeksi *Salmonella* pada manusia bervariasi bergantung pada kondisi kesehatan manusia. Anak-anak dibawah usia 5 tahun, lanjut usia dan pasien dengan tingkat imunitas yang rendah lebih beresiko terkena infeksi dibanding individu yang sehat (Eng, 2015).

Sistem imun terdiri dari gabungan molekul, sel dan jaringan yang berperan sebagai pertahanan terhadap infeksi. Sistem imun dibutuhkan tubuh untuk melindungi bahaya yang disebabkan oleh berbagai bahan dalam lingkungan hidup (Baratawidjaya, 2012). Senyawa yang dapat memodifikasi sistem imun disebut imunomodulator (Saroj, 2012). Obat imunomodulator berbahan organik sintetik memiliki keterbatasan. Kebanyakan imunomodulator dalam penggunaan klinis bersifat sitotoksik dengan berbagai macam efek samping sehingga diperlukannya pengobatan herbal sebagai agen multi-komponen (Jantan, 2015).

Salah satu famili dari tanaman tropis yang potensial untuk diteliti karena sumber senyawa bioaktif adalah Moracea, genus utama dari tanaman ini adalah *Artocarpus*. Spesies *Artocarpus* mengandung senyawa fenolik, antara lain

flavonoid, stilbenoid, dan 2-arilbenzofuran (Hakim *et al.*, 2006). Senyawa flavonoid secara klinis dapat melindungi tubuh dari berbagai macam infeksi. Flavonoid termasuk kuersetin dapat memodulasi ekspresi TNF- α yang didominasi oleh sel T CD4 dan monosit CD14. Hasil ini menunjukkan flavonoid memiliki kemampuan untuk memodulasi respon imun. TNF- α juga memiliki efek pada pertumbuhan, diferensiasi dan kematian sel imun (Nair, 2006).

Artocarpus integer atau cempedak adalah salah satu tanaman obat tradisional di Indonesia. Biji cempedak dapat digunakan untuk mengatasi diare, dan akarnya digunakan untuk penyakit malaria (Heyne, 1987). Kulit buah cempedak juga memiliki aktivitas antioksidan (Rahmadi, 2020) dan sebagai antitirosinase dan antimikroba (Dej-adisai, 2013). *A. integer* memiliki efek imunostimulan, ekstrak dari kulit batang cempedak dapat meningkatkan produksi sitokin (IFN- γ , TNF- α , IL-10) pada tikus yang diinduksi oleh bakteri *Plasmodium berghei* (Widyawaruyanti, 2020).

Adanya potensi efek imunomodulator pada tanaman cempedak namun belum adanya penelitian mengenai efek imunomodulator daun cempedak maka diharapkan penelitian ini dapat memperoleh informasi tentang potensi imunomodulator pada ekstrak etanol daun cempedak. Penelitian aktivitas imunomodulator dilakukan dengan agen penginduksi *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) dikarenakan dapat menyebabkan demam tifoid serupa pada manusia (Sunarno, 2007) serta mempengaruhi sistem imun spesifik maupun non spesifik (Diepen, 2005).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh ekstrak etanol daun *A. integer* yang diberikan pada tikus putih yang diinduksi *S. thypimurium* terhadap jumlah sel T CD₄, leukosit, limfosit, monosit, dan neutrofil?
2. Bagaimana pengaruh ekstrak etanol daun *A. integer* yang diberikan pada tikus putih yang diinduksi *S. thypimurium* terhadap parameter makroskopik dan mikroskopik limpa?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun *A. integer* yang diberikan pada tikus putih yang diinduksi *S. thypimurium* terhadap jumlah sel T CD₄, leukosit, limfosit, monosit, dan neutrofil?
2. Mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun *A. integer* diberikan pada tikus putih yang diinduksi *S. thypimurium* terhadap parameter makroskopik dan mikroskopik limpa.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sebagai informasi mengenai aktivitas imunomodulator daun *A. Integer*.
2. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan nilai ilmiah dari potensi daun cempedak dan dijadikan dasar penelitian selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai. S. 2018, *Cellular and Molecular Immunology*, 9th Edition, Elsevier, Philadelphia.
- Alfian, R. & Susanti, H. 2012, Penetapan kadar fenolik total ekstrak methanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri, *Pharmaciana*, **2(10)**:73-80.
- Anggraini, D.P., Pratiwi, T. & Sri, M. 2012, Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Kayu Manis (*Cinamomum burmani*) terhadap Jumlah CD4 dan Interferon Gamma pada Mencit BALB/c yang Diinfeksi Bakteri *Salmonella Enteridis*, Skripsi, drh, Jurusan Kedokteran Hewan, FKH, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia.
- Arifianti, L., Oktarina, R. D., & Kusumawati, I. 2014, Pengaruh jenis pelarut pengestraksi terhadap kadar sinensetin dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus* Benth. *E-Journal Planta Husada*, **2(1)**: 1-4.
- Arimbi, A., Azmijah, R., Darsono, H., Plumeriastuti, T.V., Widiyatno, & D. Legowo. 2015, *Buku Ajar Patologi Umum Veteriner Edisi 2*, Airlangga University Press, Surabaya.
- Azizah, D. N., Kumolowati, E., & Faramayuda, F. 2014, Penetapan kadar flavonoid metode AlCl₃ pada ekstrak metanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi*, **2(2)**: 33-37.
- Bakhri, S. 2018, Analisis Jumlah Leukosit Dan Jenis Leukosit Pada Individu Yang Tidur Dengan Lampu Menyala Dan Yang Dipadamkan. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, **1(1)**:83–91.
- Baratawidjaja, K.G. & Rengganis, I. 2018, *Imunologi Dasar Edisi 12*, FKUI, Jakarta.
- Baroroh, F., Aznam, N., & Susanti, H. 2011, Uji efek antihiperglikemik ekstrak etanol daun kacapiring (*Gardenia augusta*, Merr) pada tikus putih jantan galur wistar. *Pharmaciana edisi mei*, **1(1)**: 43-53.
- Brands, D. 2006, *Salmonella*, Chelsea House Publishers, London, UK.
- Budiawan, I.G.O., Suwiti, N.K., Suastika, I.P., & Besung, I. N. K. 2013, Pengaruh Pemberian Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap Gambaran Mikorskopis Limpa Mencit yang Diinfeksi *Salmonella typhi*. *Buletin Veteriner Udayana*, **5(1)**:15-21.
- Campbell, N.A., Reece, J.B. & Mitchell, L.G. 2004, *Biologi Edisi ke-5, Jilid 3*, Erlangga, Jakarta, Indonesia.

- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. 2002, Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, **10(3)**:178-182.
- Cita, Y.P. 2011, Bakteri *Salmonella typhi* dan demam tifoid. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas*, **6(1)**:42-46.
- Dej-adisai, S., Meechai, I., Puripattanavong, J. & Kummee, S. 2014, Antityrosinase and antimicrobial activities from Thai medicinal plants. *Archives of Pharmacal Research*, **37(4)**:473-483.
- Dempsey, P. W., Vaidya, S. A., & Cheng, G. 2003, The art of war: Innate and adaptive immune responses. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, **60(12)**:2604-2621.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008, *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi I, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, Indonesia.
- Dewi, A.C., Ali, M. & Purnomo, H. 2016, Efek ekstrak propolis terhadap ekspresi TNF- α , apoptosis dan nekrosis jaringan otak tikus model traumatic brain injury (TBI). *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, **29(2)**:117-124.
- Diepen, A.V. 2005, *Salmonella typhimurium* and its host: host-pathogen cross-talk, immune evasion, and persistence, *Thesis*, Leiden University, Neherland.
- Endarini, L.H. 2016, *Farmakognosi dan Fitokimia*, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, Indonesia.
- Eng, S.K., *et al.* 2015, Salmonella: a review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*, **8(3)**:284-293.
- Eroschenko, V.P. 2017, *Atlas of Histology with Functional Correlation*, 13th Ed, Wolters Kluwer, Philadelphia.
- Federer, W. 1991, *Statistics and society: data collection and interpretation*, 2nd Edition, New York.
- Fitmawati, F., Andani., V & Sofiyanti, N. 2018, Jenis-Jenis Cempedak (*Artocarpus champeden Lour.*) Di Kabupaten Kampar Provinsi Riau. *EKOTONIA: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*, **03(01)**:35-43.
- Freund, M. H. 2012, Atlas Hematologi: Praktikum Hematologi dengan Mikroskop, Edisi 11. Kedokteran EGC, Jakarta.

- Gartner, L.P., & Hiatt, J.L. 2014, *Color Atlas and Text of Histology*, 6th Ed, Wolters Kluwer, Philadelphia.
- Greer, J.P., *et al* (eds). 2019, *Wintrobe's Clinical Hematology*, 14th Edition, Wolters Kluwer, Philadelphia.
- Haeria, H., & Andi, T.U. 2016. Penentuan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Science*, **1(2)**:57-61.
- Hakim, E.H., *et al*. 2006. Prenylated flavonoids and related compounds of the Indonesian *Artocarpus* (Moraceae). *Journal of Natural Medicine*, **60(3)**:161–184.
- Handayani, W dan Haribowo, A.S. 2008, *Buku Ajar Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi*, Salemba medika, Jakarta.
- Harborne, J.B. 1984, *Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plant analysis*, 2nd Edition, Chapman and Hall, London.
- Hardianto, D. 2019, Telaah Metode Diagnosis Cepat dan Pengobatan Infeksi *Salmonella typhi*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*. **6(1)**:149-158.
- Hermayanti. 2013, Uji Efek Tonikum Ekstrak Daun Ceguk (*Quisqualis Indica* L.) terhadap Hewan Uji Mencit (*Mus Musculus*), Universitas Indonesia Timur: 95-99.
- Heyne, K. 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia II*, Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta, Indonesia.
- Hudz, N., Yezerska, O., Shanaida, M., Sedláčková, V. H., & Wiczorek, P. P. 2019, Application of the Folin-Ciocalteu method to the evaluation of *Salvia sclarea* extracts. *Pharmacia*, **66(4)**:209-215
- Irmawati I., Tjahjono., & Dharmana E. 2004, Pengaruh jus Aloe Vera terhadap proliferasi limfosit, produksi reactive oxygen intermediate dan koloni kuman organ hepar mencit Balb/C yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*. *Media Medika Indonesia*, **(39)**:195-202.
- Ismoedijanto, I. 2016, Demam pada Anak, *Sari Pediatri*, **2(2)**:103-8.
- Jagtap, U.B. & Bapat, V.A. 2010, *Artocarpus*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of ethnopharmacology*, **129(2)**:142-166.

- Jantan, I., Ahmad, W. & Bukhari, S.N.A. 2015, Plant-derived immunomodulators: an insight on their preclinical evaluation and clinical trials. *Frontiers in plant science*, **6(1)**:655.
- Kiswari, R. 2014, Hematologi dan Transfusi, Elangga, Jakarta.
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of agricultural and food chemistry*, **51(25)**: 7292-7295.
- Li, J., *et al.* 2015, Neutrophil-to-lymphocyte ratio positively correlates to age in healthy population. *Journal of clinical laboratory analysis*, **29(6)**:437-443.
- Lim, T.K. 2012, *Artocarpus integer*, *Edible Medicinal And Non Medicinal Plants*, Springer, Dordrecht.
- Lindstrom, N. M., Moore, D. M., Zimmerman, K., & Smith, S. A. 2015, Hematologic assessment in pet rats, mice, hamsters, and gerbils: blood sample collection and blood cell identification. *The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice*, **18(1)**:21-32.
- Lin, J. Y., & Tang, C. Y. 2007, Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food chemistry*, **101(1)**:40-147.
- McKenzie, S.B. 2015. Clinical Laboratory Hematology, Second Edition. Pearson Education Inc, New Jersey.
- Mescher, Anthony L. 2012, *Histologi Dasar*, Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia.
- Middleton, E.J.R., Kandaswami, C. & Theoharides, T.C. 2000, The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol Reviews*, **52(4)**: 673-751.
- Muntafiah, A., Pratama, T. S. & Ati, V.R.B. 2019, Evaluasi Potensi Antidiabetes Sari Buah Markisa Ungu (*Passiflora edulis var edulis*) pada Tikus Model Diabetes Melitus yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, **30(3)**:191-196.
- Murphy, K., Travers, P. and Walport, M. 2012. Janeway's Immunobiology, 8th ed, Garland Science, New York.
- Nair, M.P., *et al.* 2006, The flavonoid quercetin inhibits proinflammatory cytokine (tumor necrosis factor alpha) gene expression in normal peripheral blood mononuclear cells via modulation of the NF- κ B system. *Clinical and Vaccine Immunology*, **13(3)**:319-328.

- Ohashi, K., Winarno, H., Mukai, M., Inoue, M. & Prana, M.S. 2003, Cancer Cell Invasion Inhibitory Effects of Chemical Constituents In The Parasitic Plant *Scurrula atropurpurea* (Loranthaceae). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **51**:343-345
- O’Gorman, M.R.G. & Donnenberg, A.D. 2008, *Human Immunologi 2nd Edition*, CRC Press (Taylor and Francis Group), USA. Penerbit FKUI, Jakarta, Indonesia.
- Palupi, D. H. S., Retnoningrum, D. S., Iwol, M. I., and Soemardji, A. A., 2020. Leaf Extract Of *Artocarpus altilis* [Park] Fosberg Has Potency As Antiinflamantory, Antioxidant, And Immunosuppresan. *Rasayan Journal of chemistry*, **13(1)**: 636- 646
- Parker, G. A. (Ed.). 2017, *Immunopathology in toxicology and drug development*. Humana Press.
- Parry, C.M. *Epidemiological and clinical aspects of human typhoid fever*. In: Pietro Mastroeni, ed. *Salmonella infections: clinical, immunological and molecular aspects*, UK and New York: Cambridge University Press.
- Paul, U. K., & Bandyopadhyay, A. 2017, Typhoid fever: a review. *International Journal of Advances in Medicine*, **4(2)**: 300-306.
- Pawlina, W. 2016, *Histologi a Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology*, 7th Ed, Wolters Kluwer, Philadelphia.
- Playfair, J.H.L., Chain, B.M. 2009, *At a Glance Imunologi Edisi Kesembilan*, Penerbit Erlangga, Jakarta, Indonesia.
- Prakash, O.K.A., & Kumar, P. 2013, Screening of analgesic and immunomodulator activity of *Artocarpus heterophyllus* Lam. leaves (Jackfruit) in mice. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, **1(6)**:33-36.
- Prasetyo, A., Gelu, M.F.D., Yosefeta, R., Nugroho, D.A., dan Kurniasari, T. 2005, Pengaruh Pemberian Ekstrak *Pheretima aspergillum* terhadap Perubahan Histopatologik Ileum, Hepar, Vesika Fellea dan Lien pada tikus Balb/ yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*. *Media Medika Indonesia*, **40**:36-44.
- Primawati, S. N., Sucilestari, R., & Zainiati, L. 2014, Pengaruh Kurkumin Kunyit Putih (*Curcuma Zedoaria*) terhadap Keberadaan Koloni Bakteri pada Limpa Mencit yang diinfeksi *Salmonella Typhimurium*. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, **2(1)**:84-87

- Raffatellu. 2005, The Vi capsular antigen of *Salmonella enterica* serotype typhi reduces toll-like receptor-dependent Interleukin-8 expression in the intestinal mucosa. *Journal Infection and immunity*, **73(6)**:3367-3374.
- Rahmadi, A., Sabarina, Y., Agustin, S. 2020, Different drying temperatures modulate chemical and antioxidant properties of mandai cempedak (*Artocarpus integer*), *F1000 Research*, **7(2)**:1706.
- Rudyatmi, E. 2011, *Bahan Ajar Mikroteknik*, FMIPA UNNES, Semarang.
- Saroj, P., Verma, M., Jha & K., Pal, M. 2012), An Overview on Immunomodulation. *Journal of Advanced Scientific Research*, **3(1)**:07-12.
- Sharma, A., *et al.* 2014, Safety and Blood Sample Volume and Quality of a Refined Retro-Orbital Bleeding Technique In Rats Using a Lateral Approach, *Lab Animal*, **43(2)**:63-66.
- Simbala, H.E.I. 2009, Analisis senyawa alkaloid beberapa jenis tumbuhan obat sebagai bahan aktif fitofarmaka, *Pasific Journal*, **1(4)**:489-494.
- Sujono, T. A., Kusumowati, I. T. D., & Munawaroh, R. 2021, Effects of Jamaican cherry (*Muntingia calabura* L.) Fruits Extract on Immunoglobulin G Levels and Hematological Profiles in Mice. *Pharmacognosy Journal*, **13(2)**:535-541
- Sunarno, S. 2007, *Efek Phyllanus niruri L Pada Prosentase Neutrofil, Koloni Bakteri Limpa, dan Histopatologi Hepar Mencit Balb/C yang Diinfeksi Salmonella typhimurium*. Doctoral dissertation, Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro.
- Suttie, A. W., Leininger, J. R., & Bradley, A. E. 2017, *Boorman's Pathology of the Rat*. Elsevier Science.
- Thakar, M., *et al.* 2012, Utility of the point of care CD4 analyzer, PIMA, to enumerate CD4 counts in the field settings in India. *AIDS research and therapy*, **9(1)**:1-7
- Tjandrawinata, R. R., Susanto, L. W., & Nofiarny, D. 2017, The use of *Phyllanthus niruri* L. as an immunomodulator for the treatment of infectious diseases in clinical settings. *Asian Pacific Journal Tropical Disease*, **7(3)**:132-140.
- Tjay, T.H. & Rahardja, K. 2007, *Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya*, Edisi Keenam, Elex Media Komputindo, Jakarta, Indonesia.
- Wael, S., Mahulette, F., Watuguly, T. W., & Wahyudi, D. 2018, Pengaruh ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap limfosit dan makrofag mencit balb/c. *Traditional Medicine Journal*, **23(2)**:79-83.

- Widanarni, W., Farouq, A. & Yuhana, M. 2014, Aplikasi Probiotik, Prebiotik dan Sinbiotik melalui Pakan untuk Meningkatkan Respon Imun dan Kelangsungan Hidup Ikan Nila *Oreochromis niloticus* yang Diinfeksi Streptococcus. *Jurnal Sains Terapan*, **1(1)**:15-26
- Widyastuti, D.A. 2013, Profil Darah Tikus Putih Wistar pada Kondisi Subkronis Pemberian Natrium Nitrit, *Jurnal Sain Veteriner*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia.
- Widyawaruyanti, A., Harwiningtias, N., Tumewu. & L., Hafid, A. F. 2020, Effect of Formulated *Artocarpus* champeden Extract on Parasite Growth and Immune Response of *Plasmodium berghei*-Infected Mice, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. **2020**: 1-7.
- Wulandari, E. 2018, *Pengaruh Pemberian Sinbiotik Kombinasi Lactobacillus acidophilus dan Spirulina platensis Terhadap Jumlah Relatif Sel CD4 dan Gambaran Histopatologi Ileum Tikus Putih yang Diinduksi Bakteri Salmonella enteritidis* (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Zhang, G., & Fenderson, B.A. 2015, *Illustrated Q&A Review of Histology*, Wolters Kluwer, Philadelphia.
- Zhang, S., et al. 2003, Molecular pathogenesis of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium-induced diarrhea, *Infection and immunity*, **71(1)**: 1-12.