

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG DAYAK (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) SECARA ORAL PADA MENCIT BALB/C TERHADAP PENCEGAHAN PENURUNAN JUMLAH SEL YANG TEREKSPRESI IFN- γ dan PENINGKATAN JUMLAH SEL YANG TEREKSPRESI CD 14

Angeline Novia Toemon

Program Studi S2 Imunologi, Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya
JL. Airlangga No. 4-6 Surabaya (60286) Telp. 031-5041566, Fax. (031) 5029856
Email: angelinetoemon@yahoo.co.id

ABSTRAK

Ekstrak Etanol Bawang Dayak mengandung senyawa-senyawa turunan Naphtoquinones dan turunannya, Naphtoquinones tersebut merupakan senyawa antimikroba, antifungal, antiviral, antiparasitik, memiliki bioaktivitas anti kanker dan anti oksidan. Kandungan fitokimia pada bawang dayak diyakini sebagai metabolik sekunder. Unsur Fitokimia pada bawang dayak yaitu Tanin sebagai antioksidan, Alkaloid sifat basanya mempermudah dekomposisi sinar UV, Glikosida, Steroid, Flavonoid berkaitan dengan inaktivasi karsinogen, anti proliferasi, penghambatan siklus sel, induksi apoptosis, differensiasi, inhibisi, angiogenesis serta mencegah resistensi multi terapi.

Imunoterapi Supresi suatu metode terapi yang berfungsi menekan sistem imun. Contoh bahan obat yang berkaitan dalam metode tersebut adalah golongan Glukokortikoid. Kortikosteroid merupakan obat yang mudah ditemukan serta luas penggunaannya di klinik. Begitu luasnya penggunaan kortikosteroid ini bahkan banyak yang digunakan tidak sesuai dengan indikasi maupun dosis dan lama pemberian dapat menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan. Prednisolon mempunyai efek glukokortikoid yang dominan dan merupakan kortikosteroid oral yang paling sering digunakan dalam terapi supresi penyakit jangka panjang. Berdasarkan hal tersebut perlu dipikirkan obat dari bahan alam yang mencegah penurunan imun sistem akibat pemberian kortikosteroid. Pada pemakaian kortikosteroid jangka panjang, jika imun sistem tidak dipertahankan dan penurunan imun sistem akan terjadi infeksi dan kematian.

Aktivasi makrofag dapat dilakukan oleh mediator yang dilepaskan oleh limfosit yang dirangsang antigen pada permukaannya. Aktivasi makrofag dapat pula oleh induksi komponen komplemen, interferon (IFN) atau endotoksin (LPS) produk bakteri. Aktivasi makrofag memerlukan rangsangan non spesifik. Makrofag sebagai fagosit profesional menghancurkan patogen melalui beberapa reseptor merangsang produksi substansi mikrobial melalui CD14.

Tujuan penelitian ini ingin membuktikan efek pemberian ekstrak EEUBD terhadap pencegahan penurunan jumlah sel yang tereksresi IFN- γ dan peningkatan jumlah sel yang tereksresi CD 14.

Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan strain BALB/C umur 12 minggu, BB 25-30 gram. Dilakukan random alokasi 30 ekor mencit, yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok 1 sampai kelompok 5 masing-masing sebanyak 6 ekor mencit. Mencit pada kelompok 1 atau kontrol tidak diberikan Metilprednisolon dan EEUBD. Mencit kelompok 2 diberikan Metilprednisolon. Mencit pada kelompok 3-5 diberikan Prednisolon dan EEUBD dengan konsentrasi 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB.

Mencit pada kelompok 1 diberi sonde larutan CMC Na⁺ 0,5 % sebanyak 0,1ml/10gBB 1x/hari (volume lambung mencit sekitar 0,5 - 1 cc) setiap hari selama 14 hari (waktu yang diperlukan untuk terbentuknya respon imun ialah 10 hari, maka peneliti menetapkan 14 hari untuk mengurangi risiko kegagalan). Mencit pada kelompok 2 diberi sonde larutan metilprednisolon oral 0,08 mg/30 grBB mencit/hari. Mencit pada kelompok 3 diberikan sonde larutan metilprednisolon dan ekstrak umbi bawang dayak konsentrasi 50 mg/kgBB setiap hari selama 14 hari. Mencit pada kelompok 4 diberikan sonde larutan metilprednisolon dan ekstrak umbi bawang dayak konsentrasi 100 mg/kgBB setiap hari selama 14 hari. Mencit pada kelompok 5 diberikan sonde larutan metilprednisolon dan ekstrak umbi bawang dayak konsentrasi 200 mg/kgBB setiap hari selama 14 hari.

Hasil yang didapat adalah Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa (mill.) urb.*) secara oral pada mencit BALB/C terhadap pencegahan penurunan jumlah sel yang tereksresi IFN- γ secara bermakna dan peningkatan jumlah sel yang tereksresi CD 14 yang kurang bermakna.

Jumlah sel pengeksresi CD 14 pada kelompok pemberian dosis 200 mg/kgBB EEUBD dan Metil Prednisolon (P3) lebih tinggi secara bermakna dibandingkan dengan kelompok tanpa pemberian ekstrak EEUBD (K) dan kelompok model (Metil prednisolon), dimana nilai rerata dan simpangan baku untuk kelompok P3 (4,9000 $\pm$ 1,54406). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ada pengaruh pemberian EEUBD pada mencit BALB/C terhadap peningkatan jumlah sel pengeksresi CD 14 secara bermakna.

Analisis hubungan antara jumlah sel penghasil IFN- γ dengan jumlah sel pengeksresi CD 14, hasil statistika uji korelasi antara jumlah sel penghasil IFN- γ dengan jumlah sel pengeksresi CD14 menunjukkan hubungan ditemukan hasil yang bermakna (signifikan) adalah 0,005 (CD14) dan kurang signifikan pada nilai 0,054 (IFN- γ).

Pada Uji Komparasi Ganda dengan *Post Hoc Tests Games-Howell* dari jumlah sel pengeksresi CD14 tabel 5.4 di atas, menunjukkan hasil yang bermakna /signifikan pada $p < 0,05$ pada kelompok perlakuan bila pemberian EBD 200 mg/KgBB terhadap pemberian obat Metil Prednisolon. Serta pada jumlah sel Interferon Gamma, menunjukkan hasil yang bermakna / signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok perlakuan pemberian EBD 200 mg/KgBB terhadap pemberian obat Metil Prednisolon.

Dari hasil penelitian tersebut dapat dikatakan Aktivasi Makrofag yang dilihat dari peningkatan jumlah sel yang tereksresi CD 14 diikuti dengan peningkatan aktivitas atau jumlah sel IFN - γ . Peningkatan yang kurang bermakna dari IFN- γ dari penelitian ini kemungkinan dalam peran sel T CD 8⁺ yang berperan dalam mengsekresikan IFN- γ kurang teregulasi secara optimal serta bisa saja sel yang mengekspresikan IFN gamma terikat sebagian dalam pengecatan Imunohistokimia dengan metode pewarnaan Double Stain.

Penelitian ini menyimpulkan Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (EEUBD) dosis 200 mg/kg BB mempengaruhi peningkatan jumlah sel yang mengekspresikan CD 14 pada mencit BALB/C . Peningkatan jumlah sel yang mengekspresikan CD 14 ini menunjukkan peningkatan aktivasi makrofag.

Peningkatan ekspresi IFN gamma pada dosis 200 mg/kgBB pada perlakuan mencit BALB/C kontrol dengan CMC Na menunjukkan bahwa EEUBD kurang bermakna dalam penelitian ini karena

dengan pengecatan Double Stain yang tidak tercat atau terikat baik seperti yang diharapkan sehingga bisa saja sel yang mengekspresikan IFN gamma terikat sebagian dalam pengecatan.

Peningkatan jumlah sel yang mengekspresikan CD 14 dimana meningkatkan makrofag yang aktif ini menunjukkan bahwa peran EEUBD ini dalam respon imun, berperan dalam mengeluarkan substansi penting termasuk enzim, lisozim dimana akan memusnahkan bakteri atau benda asing.

Kata Kunci : ekstrak umbi bawang dayak, imunosupresi, aktivasi makrofag, sitokin IFN- γ , respon imun.

ABSTRACT

Extract of Etanol Onion of Dayak compounds of Naphtoquinones and its generation, The Naphtoquinones represent compound of antimikroba, antifungal, antiviral, antiparasitik, bioaktivitas anti cancer and anti oksidan. Substance fitokimia of onion of dayak believed as sekunder metabolik. Element of Fitokimia onion of dayak that is Tanin as antioksidan, Alkaloid can decomposite of UV rays, Glikosida, Steroid, Flavonoid relate to carcinogen inaktivasi, anti proliferasi, cell cycle resistance, induce apoptosis, differensiasi, inhibisi, angiogenesis and also prevent therapi multi resistensi.

Imunoterapi Supresi is functioning therapy method to depress immured system. Materials drug example in the method is faction of Glukokortikoid. Kortikosteroid represent drug which is easy to be found and also usefull in clinic. So broadness usage of this kortikosteroid even used disagree with dose and also indication can generate undesirable side effects. Prednisolon have effect of glukokortikoid dominant and represent most oral kortikosteroid, often used in therapy of supresi long-range disease. Pursuant to mentioned require to be thought of drug natural materials which prevent immune degradation system effect of kortikosteroid. The usage of long-range kortikosteroid, if is immune system is not be defended and immured degradation system will happened death and infection.

Activation of Makrofag can be conducted by mediator discharged by stimulated by limfosit antigen surface. Activation of Makrofag earn also by component induction of komplemen, interferon (IFN) or of endotoksin (Product bacterium LPS). Activation of Makrofag need excitement non spesific. Makrofag as professional fagosit.

Patogen breaking some reseptor to stimulate production of substansi mikrobial pass through CD14. Target of this research is proving the effect of EEUBD to prevention of degradation of cell amount which is expression of IFN- γ and improvement of cell amount which expression of CD 14.

Experimental Animal is masculine Mice strain BALB / C, age 12 minggu, 25-30 gram. Allocation random 30 tail of Mice, divided become 5 group, that is group 1 until group 5 each counted 6 tail of mencit. Mice group 1 or control do not be given by Metilprednisolon and EEUBD. Mencit Group 2 given by Metilprednisolon. Mencit group 3-5 given by Prednisolon and EEUBD with concentration 50 mg / kgBB, 100 mg / kgBB and 200 mg / kgBB.

Mencit group 1 given by condensation sonde of CMC Na⁺ 0,5 % counted 0,1ml/10gBB1x/hari (volume bounce up mencit [about 0,5 - 1 cc) every day during 14 day needed to time immune respon is 10 day, specify 14 day to controled failure risk. Mencit [at] group 2 given by condensation sonde of metilprednisolon oral 0,08 mg / 30 mencit grBB / day. Mencit group 3 given by condensation sonde of metilprednisolon onion corm extract and of dayak concentration 50 mg / kgBB every day during 14 day. Mencit group 4 given by condensation sonde of metilprednisolon onion corm extract and of dayak concentration 100 mg / kgBB every day during 14 day. Mencit

group 5 given by condensation sonde of metilprednisolon onion corm extract and of dayak concentration 200 mg / kgBB every day during 14 day.

Result of this research indicate that there is influence of extract of etanol onion corm of dayak (*Bulbosa Eleutherine* (urb mill.)) by oral for Mice BALB / C to prevention of degradation of cell amount which expression of IFN- γ by having a meaning of and increase of amount of cell which [expression of CD 14 less having a meaning .

Amount of cell pengeksresi of CD 14 at group dose 200 mg EEUBD and Methyl of Prednisolon (P3) higher by having a meaning to be compared to group without extract of EEUBD (K) and model group (methyl of Prednisolon), where average value and standard deviation for the group of P3 ($4,9000 \pm 1,54406$). Result of this research indicate that there is influence of EEUBD at Mice BALB / C to increase of the amount of cell expersion of CD 14 by having a meaning .

The Analysis about amount of cell producer of IFN- γ with amount of cell producer of CD 14, result of statistika test correlation beetween amount of cell producer of IFN- γ with amount i of CD14 show found by result of having a meaning of 0,005 (CD14) and less signifikan at value 0,054 (IFN- γ).

Test of Comparasion Double with Post Hoc Tests Games-Howell from amount of CD14 this tables of 5.4 above, showing result of having a meaning or signifikan at $p < 0,05$, treatment group of EEBD 200 mg with Methyl drug of Prednisolon. And also amount of cell of Interferon Gamma, showing result of having a meaning or signifikan ($p < 0,05$) at group treatment of EEBD 200 mg / Kgbb with Methyl drug of Prednisolon.

From result of the research can be told, Activation of Makrofag seen from increase of the amount of cell which expression of CD 14 followed with make-up of cell amount or activity of IFN - γ . The Increase of less having a meaning of IFN- of this research , possibility in role of cell of T CD 8+ what play a part in IFN - γ having less regulated in optimal and also cell might possibly expressing IFN gamma tied some of in painting of Imunohistokimia with method coloration of Double Stain.

This Research conclude Extract of Etanol Corm Onion of Dayak (EEUBD) Dose 200 mg .Influence the increase of the amount of cell expressing CD 14 Mice BALB / C . The Increase of the amount of cell expressing CD 14 this show the make-up of activation of makrofag.

The increase of expression of IFN gamma at dose 200 mg / kgBB treatment of Mice BALB / C control with CMC Na indicate that EEUBD less having a meaning in this research because with painting of Double Stain which do not be painted or tied goodness is such as those which expected so that cell might possibly expressing IFN gamma tied some of in painting.

The increase of the amount of cell expressing CD 14 where improving active makrofag indicate that role of this EEUBD is important substansi including enzim,lisozim where will foreign object or bacterium.

Keyword : onion corm extract of dayak , imunosupresi , activation of makrofag,sitokin IFN- γ ,imunne respon

PENDAHULUAN

Imunitas adalah suatu kemampuan mengenali suatu zat atau bahan sebagai asing terhadap dirinya ,kemudian tubuh memberi tanggapan (respons imun) dengan berbagai cara seperti netralisasi, memasukan dalam

sistem metabolisme atau melenyapkan akibat yang tidak menguntungkan tubuh. Imunodulator adalah senyawa/zat yang membantu memodulasi/me-regulasi sistem imun. Regulasi adalah proses menormalkan/mengoptimalkan (sistem imun).

Berdasarkan penjelasan tersebut diketahui bahwa pentingnya penggunaan imunomodulator dalam pengobatan. Saat ini telah diketahui banyak jenis tanaman herbal yang dapat bermanfaat sebagai imunomodulator, salah satu diantaranya adalah tanaman bawang dayak. Meskipun belum ada penelitian yang menerangkan bahwa bawang dayak dapat berfungsi sebagai imunomodulator, namun dilihat dari kandungan flavonoid dan alkaloid umbi bawang dayak tersebut dapat dijadikan acuan, kemungkinan umbi bawang dayak dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh. Selain itu, secara empiris umbi tanaman ini digunakan oleh masyarakat di Jeneponto sebagai obat campak dengan nama ralle. (Usmar, dkk, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar).

Sedangkan Imunoterapi Supresi suatu metode terapi yang berfungsi menekan sistem imun. Contoh bahan obat yang berkaitan dalam metode tersebut adalah golongan Glukokortikoid. Kortikosteroid merupakan obat yang mudah ditemukan serta luas penggunaannya di klinik. Begitu luasnya penggunaan kortikosteroid ini bahkan banyak yang digunakan tidak sesuai dengan indikasi maupun dosis dan lama pemberian dapat menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan. Penggunaan klinis kortikosteroid adalah sebagai terapi substitusi terapi supresi reaksi host versus graft pada transplantasi, kelainan neoplastik jaringan limfoid dan terutama sebagai anti inflamasi sehingga diharapkan akan menghambat semua proses peradangan dan mengurangi permeabilitas kapiler yang terjadi akibatnya (Azis, 2006). Prednisolon mempunyai efek glukokortikoid yang dominan dan merupakan kortikosteroid oral yang paling sering digunakan dalam terapi supresi penyakit jangka panjang.

Berdasarkan hal tersebut perlu dipikirkan obat dari bahan alam yang mencegah penurunan imun sistem akibat pemberian kortikosteroid. Pada pemakaian kortikosteroid jangka panjang, jika imun sistem tidak dipertahankan dan penurunan imun sistem akan terjadi infeksi dan kematian.

Pada stadium awal pengenalan (inisiasi) dalam respon imun, terdapat sekelompok sel fungsional yang disebut antigen presenting cells. Antigen yang

diimunisasikan di dalam tubuh hewan coba, pertama kali dijamu oleh suatu sel yang disebut sebagai APC (Antigen Presenting Cells). Selanjutnya di dalam tubuh APC antigen tersebut diproses dan diekspresikan bersama MHC kelas II pada permukaan sel yaitu T-Helper. Adanya IL-1 dan IL-2 mengalami diferensiasi menjadi Th-1 dan Th-2. IFN- γ yang dihasilkan Th-1 akan memicu peningkatan aktifitas APC.

Fungsi utama IFN- γ dalam mengatur respons imun adalah: 1) sebagai aktivator poten untuk fagosit mononuklear, 2) meningkatkan ekspresi molekul MHC kelas I dan ekspresi molekul MHC kelas II, 3) merangsang sel T untuk berdiferensiasi, 4) mengaktifasi neutrofil dan meningkatkan respiratory burst, 5) merangsang aktivitas sitolitik sel NK, 6) merupakan aktivator sel endotel, meningkatkan adhesi sel CD4⁺ dan memudahkan ekstrasvasasi limfosit.

Kemampuan sel menyajikan antigen salah satunya dipengaruhi bagaimana sel tersebut menangkap antigen dan memprosesnya dan selanjutnya mengekspresikan antigen yang diproses pada permukaan sel bersama-sama dengan MHC kelas II. Produksi sitokin oleh APC dan sel-sel yang berada di dekatnya maupun ekspresi molekul adhesi berperan penting. Selain itu, saat sinyal rangsangan dilancarkan penting menentukan apakah yang terjadi aktivasi atau toleransi. (Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Antigen processing and presentation to T Lymphocytes. Dalam: Cellular and molecular immunology 6th ed. Philadelphia, WB Saunders 2007; 113-36). Aktivasi makrofag dapat dilakukan oleh mediator yang dilepaskan oleh limfosit yang dirangsang antigen pada permukaannya. Aktivasi makrofag dapat pula oleh induksi komponen komplemen, interferon (IFN) atau endotoksin (LPS) produk bakteri. Aktivasi makrofag memerlukan rangsangan non spesifik. Makrofag sebagai fagosit profesional menghancurkan patogen melalui beberapa reseptor merangsang produksi substansi mikrobial melalui CD14.

Berdasarkan hal tersebut peneliti berupaya melakukan penelitian pengaruh pemberian ekstrak etanol Umbi Bawang Dayak / *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb secara oral pada mencit BALB/C terhadap

pencegahan penurunan jumlah sel yang mengekspresikan IFN- γ dan peningkatan jumlah sel yang mengekspresikan CD 14.

METODE PENELITIAN

Instrumen Penelitian

1. Alat pemeliharaan mencit : Kandang mencit dari kotak plastik, ram kawat, alas kandang, tempat makanan dan botol air.
2. Alat untuk pembedahan mencit : kotak kaca dan penutup kaca pembiasan, scalpel (pisau bedah), surgical scissor (gunting bedah) dan pinset.
3. Alat untuk melarutkan dan pemberian ekstrak etanol umbi bawang dayak : timbangan mikro Toledo, tabung falcon, alumunium foil, vortex mixer, sonde lambung, spuit 1 ml terumo dan rak tabung reaksi.
4. Mikroskop.
5. ELISA Kit reader

Bahan Penelitian

1. Hewan coba dengan kriteria jenis mencit (*Mus musculus*) : BALB/c berjenis kelamin : jantan, umur 12 minggu dengan berat badan 25 – 30 gram, kesehatan mencit dapat diamati dengan gerakan cukup lincah, tidak lesu, kulit bersih dan tanpa luka, mata terang dan tidak sayu.
2. Jenis makanan pellet CP 511 dan jenis minuman aquadestila.
3. Perawatan mencit pemberian makanan pellet, pemberian minum secara ad libitum 5 ml/ekor/4 hari, penggantian sekam untuk alas tidur 2 hari sekali, untuk sanitasi kandang dibersihkan setiap hari dengan suhu sesuai dengan suhu ruang, ventilasi dan sinar matahari yang cukup dan tidak lembab.
4. Pembuatan ekstrak etanol bawang dayak. Umbi bawang dayak dikupas kulit luarnya dicuci bersih dan diiris tipis-tipis, kemudian diangin-anginkan hingga kering. Selanjutnya irisan umbi bawang dayak tersebut dibuat serbuk. Ditimbang 500 gram serbuk umbi bawang dayak kering, ditambahkan 2 ml etanol kemudian disimpan selama 24 jam (serbuk bawang

dayak dilarutkan dalam 2 ml etanol 96 % dengan metode maserasi yaitu bahan direndam etanol 1 x 24 jam hingga etanolnya menguap, lalu disaring untuk diambil fibratnya). Besoknya ditampung kemudian dirotavator. Ada sisa sari ditambahkan 1,5 liter etanol, didiamkan 24 jam. Ampas bawang dayak dimaserasi kembali selama 1 x 24 jam kemudian diambil filtratnya. Besoknya diambil lagi, dirotavator kembali, sisanya diberi etanol 1,5 liter, hal ini dilakukan selama 3 hari berturut-turut. Pembagian filtrat dilakukan 3 kali kemudian semua filtrat dikumpulkan menjadi satu, lalu diuapkan dengan alat *rotary evaporator buchi R-200* melalui penurunan tekanan pada suhu 40 – 45 derajat celcius, sehingga diperoleh ekstrak kental bawang dayak. Selanjutnya dibuat sediaan ekstrak etanol umbi bawang dayak konsentrasi 50 mg/kgBB dengan cara diambil 0,1 ml EEUBD larutkan bersama 0,1 ml larutan CMC Na⁺ 0,5 %. Dibuat juga sediaan ekstrak etanol umbi bawang dayak konsentrasi 100 mg/kgBB dengan cara diambil 0,2 ml EEUBD larutkan bersama 0,1 ml larutan CMC Na⁺ 0,5 %. Terakhir dibuat sediaan ekstrak etanol umbi bawang dayak konsentrasi 200 mg/kgBB dengan cara diambil 0,3 ml EEUBD larutkan bersama 0,1 ml larutan CMC Na⁺ 0,5 %.

5. Pembuatan larutan Metilprednisolon berdasarkan dosis oral 25 mg/kgBB. Pembuatan larutan induksi metilprednisolon berupa 0,08 mg metilprednisolon /30 grBB mencit/ hari dilarutkan bersama 0,2 ml larutan CMC Na⁺ 0,5 %.
6. Ketamin (Ketamine HCl / 2-(0-chlorophenil) – 2 (methilamino) cyclohexanone hydrochloride) dengan dosis 0,025 mg/10 grBB mencit berdasarkan dosis 10 mg/kgBB.
7. Larutan CMC Na⁺ 0,5%
8. Formalin 10 %, etanol 70%, 80%, 99%, xylol, Paraffin cair, kaset, *cover slip*, *base mould*, *beker glass*, gelas ukur, termometer, *cutter*, pinset panjang, *tissue processor auto technicon*, *hot plate*, *cold plate*, *paraffin dispenser* untuk membuat preparat.
9. *Rotary microtome*, *disposable blad*, kuas cat air kecil nomor 1, *Tissue flotation bath*,

kaca obyek, diamond pencil, staining rack,
hot plate, aquadestilata.

10. Monoklonal antibodi terhadap NK sel
yaitu CD 56⁺ dan CD 8⁺ (Rat Anti Mouse).

Ekstrak yang diteliti berupa ekstrak etanol dari umbi Bawang Dayak. Jumlah mencit yang digunakan pada penelitian ini adalah 30 ekor dan dibagi secara acak menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor. Kelompok pertama kontrol negatif diberi CMC Na, kelompok kedua diberi Metilprednisolon, kelompok ketiga, keempat dan kelima diberi ekstrak etanol umbi bawang dayak berturut-turut dengan dosis 50, 100 dan 200 mg/kgBB bersama Metilprednisolon dengan dosis 0,08 mg/30 grBB mencit/hari. Pemberian perlakuan dilakukan 1 kali sehari pada sore hari. Sebelum diberikan perlakuan, semua mencit dalam setiap kelompok perlakuan diaklimatisasi selama 1 minggu. Proses perlakuan berlangsung selama 14 hari dan pada pagi hari ke 15 dilakukan terminasi untuk pengambilan darah dari ekor mencit dan sampel KGB mencit. Pengamatan diameter germinal center dan kadar Ig G serum dilakukan. Analisis statistik dengan uji korelasi bivariat koefisien pearson.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Sel penghasil Interferon-gamma (IFN- γ) dan sel Pengekspresi CD 14

Uji normalitas data jumlah sel penghasil IFN- γ dan jumlah sel pengeksprei CD14 pada setiap kelompok perlakuan dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov Z* menunjukkan data diperoleh berdistribusi normal. Hal ini terlihat hasil analisis pada tabel 5.1 dan tabel 5.2 berikut :

Tabel 5.1 Hasil Uji Normalitas / CD 14

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test						
	CMC Na	MP	MP+EBD 50	MP+EBD 100	MP+EBD 200	
N	6	6	6	6	6	
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2,4167	3,1667	3,5167	3,3167	4,900
	Std. Deviation	1,18054	,80664	1,22868	1,01078	,54406
Most Extreme Differences	Absolute	,281	,220	,237	,290	,26
	Positive	,281	,220	,237	,290	,17
	Negative	-,219	-,158	-,124	-,157	-,26
Kolmogorov-Smirnov Z		,689	,538	,580	,709	,65
Asymp. Sig. (2-tailed)		,730	,935	,890	,695	,77

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

a. Test distribution is Normal.
b. Calculated from data.

Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas / IFN- γ

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test						
		CMC Na	MP	MP+EBD 50	MP+EBD 100	MP+EBD 200
N		6	6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2,6167	3,1500	3,0000	2,9000	4,1833
	Std. Deviation	,94322	,75829	1,16790	,74833	,73869
Most Extreme Differences	Absolute	,185	,178	,268	,178	,288
	Positive	,171	,138	,268	,178	,271
	Negative	-,185	-,178	-,168	-,175	-,288
Kolmogorov-Smirnov Z		,453	,436	,657	,435	,706
Asymp. Sig. (2-tailed)		,987	,991	,782	,992	,700

a. Test distribution is Normal.
b. Calculated from data.

Dari hasil analisis statistik di atas dari 5 data dari variabel CD14 dan IFN - γ adalah berdistribusi normal dimana $p > 0,05$. Kemudian dilanjutkan dengan uji Oneway / ANOVA pada tabel berikut (tabel 5.3)

Tabel 5.3 Oneway / ANOVA

	Mean	Std.Deviation	Minimum	Maximum
CD14	2,416	1,8054	1,10	3,80
CMC	7	,80664	2,20	4,60
Na	3,166	1,22868	2,10	5,60
	7	1,01078	2,30	4,90
Metil	3,516	,54406	4,00	5,40
Pred	7	1,23162	1,10	5,60
	3,316			
MP+E	7			
BD 50	4,900			
	0			
MP+E	3,463			
BD	3			
100				
MP+E				
BD				
200				
Total				
IFN - γ	2,616	,94322	1,60	3,80
	7	,75829	2,10	4,10
CMC	3,150	1,6790	1,80	5,20
Na	0	,74833	2,20	4,20
	3,000	,73869	2,90	5,20
Metil	0	,98756	1,60	5,20
Pred	2,900			
	0			
MP+E	4,183			
BD 50	3			
	3,170			
MP+E	0			
BD				
100				
MP+E				

BD 200				
Total				

Selanjutnya hasil analisis statistik dengan melihat korelasi pada test efek diantara dua subjek ditemukan hasil yang bermakna (signifikan) adalah 0,005 (CD14) dan kurang signifikan pada nilai 0,054 (IFN- γ). Selanjutnya dilakukan uji komparasi ganda dengan LSD (Least Significant Difference) pada sel pengeksresi CD 14 , untuk membandingkan variabel tergantung antar kelompok perlakuan, yang dapat dilihat pada tabel 5.4 berikut.

Tabel 5.4 . Uji Komparasi Ganda dengan Post Hoc Tests Games-Howell jumlah sel pengeksresi CD 14 dan jumlah sel penghasil Interferon Gamma

Multiple Comparisons

Dependent Variable		Mean Difference (I-J)		Std. Error		Sig.		95% Confidence Interval	
								Lower Bound	Upper Bound
CD14	CMC Na	MP	-7500	.56909	.200	.9237			
		EBD 50	-1.1000	.56909	.085	.2737			
		EBD 100	-.9000	.56909	.127	.20737			
		EBD 200	-2.4833(*)	.56909	.000	.36570			
		CMC Na	.7500	.56909	.200	.4237			
		MP	-.3500	.56909	.545	.15237			
	EBD 50	EBD 100	-.1500	.56909	.795	.13237			
		EBD 200	-1.7333(*)	.56909	.005	.29070			
		CMC Na	1.1000	.56909	.085	-.0737			
		MP	.3500	.56909	.545	-.8237			
		EBD 100	.2000	.56909	.729	-.9737			
		EBD 200	-1.3833(*)	.56909	.023	.25570			
	EBD 100	CMC Na	.9000	.56909	.127	.20737			
		MP	-.1500	.56909	.795	-.10237			
		EBD 50	-.2000	.56909	.729	-.13737			
		EBD 200	-1.5833(*)	.56909	.010	.27570			
		CMC Na	2.4833(*)	.56909	.000	1.3096			
		MP	1.7333(*)	.56909	.005	.5596			
	EBD 200	EBD 50	1.3833(*)	.56909	.023	.2096			
		EBD 100	1.5833(*)	.56909	.010	.4096			
		CMC Na	-.5233	.51214	.308	-.1581			
		EBD 50	-.3833	.51214	.481	-.1431			
		EBD 100	-.2833	.51214	.585	-.1331			
		EBD 200	-1.5667(*)	.51214	.005	.26214			
IFN- γ	CMC Na	MP	.9333	.51214	.308	-.5214			
		EBD 50	-.1500	.51214	.772	-.9048			
		EBD 100	.2500	.51214	.630	-.8048			
		EBD 200	-1.0333	.51214	.054	.20881			
		CMC Na	.3833	.51214	.481	-.6714			
		MP	-.1500	.51214	.772	-.12048			
	EBD 50	EBD 100	-.1000	.51214	.847	-.9548			
		EBD 200	-1.1833(*)	.51214	.029	.23381			
		CMC Na	.2833	.51214	.585	-.7714			
		MP	-.2500	.51214	.630	-.13048			
		EBD 100	-.1000	.51214	.847	-.1548			
		EBD 200	-1.2833(*)	.51214	.019	.23381			
	EBD 100	CMC Na	1.5667(*)	.51214	.005	.5119			
		MP	1.0333	.51214	.054	-.0214			
		EBD 50	1.1833(*)	.51214	.029	.1286			
		EBD 200	1.2833(*)	.51214	.019	.23381			

Based on observed means.
(*). The mean difference is significant at the .05 level.

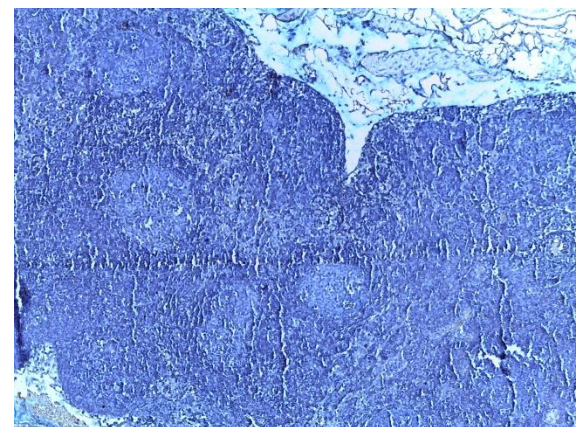
Pada Uji Komparasi Ganda dengan Post Hoc Tests Games-Howell dari jumlah sel pengeksresi CD14 tabel 5.4 di atas, menunjukkan hasil yang bermakna /signifikan pada $p < 0,05$ pada kelompok perlakuan bila pemberian EBD 200 mg/KgBB terhadap pemberian obat Metil Prednisolon. Serta pada jumlah sel Interferon Gamma pada tabel 5.4 di atas, menunjukkan hasil yang bermakna / signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok perlakuan

pemberian EBD 200 mg/KgBB terhadap pemberian obat Metil Prednisolon.

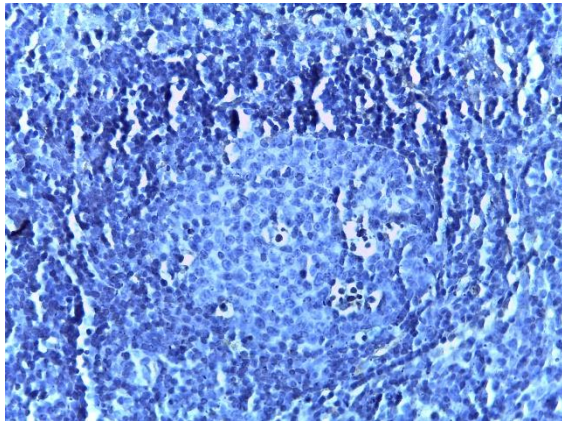
5.2 Analisis dan Hasil Penelitian ImunoHistokimia

5.2.1 Jumlah Sel IFN- γ dan sel pengeksresi CD14 (Imunohistokimia teknik pewarnaan Double Stain)

Dalam penelitian ini, teknik imunohistokimia dengan menggunakan monoklonal antibodi anti-mice digunakan untuk mengetahui menentukan jumlah sel penghasil IFN- γ dan sel pengeksresi CD 14 sebagai aktivasi makrofag pada Kelenjar Getah Bening yang terlebih dulu di proses menjadi blok paraffin. Hasilnya dihitung di seluruh jumlah folikel pada Kelenjar Getah Bening yang terwarnai coklat dengan inti sitoplasma berwarna biru (IFN- γ) dan inti sitoplasma berwarna merah (CD14) dengan pebesaran 100 x dan 400 x pada gambar-gambar berikut.

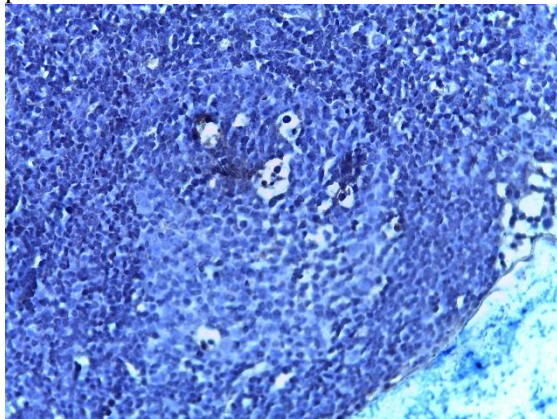


Gambar 5.1 Mikroskopik sayatan Kelenjar Getah bening Mencit pada Kelompok 1-6. Tampak Folikel dengan daerah pulpa putih adanya proses proliferasi. Pembesaran 100 kali perwarnaan IHC Double Stain.

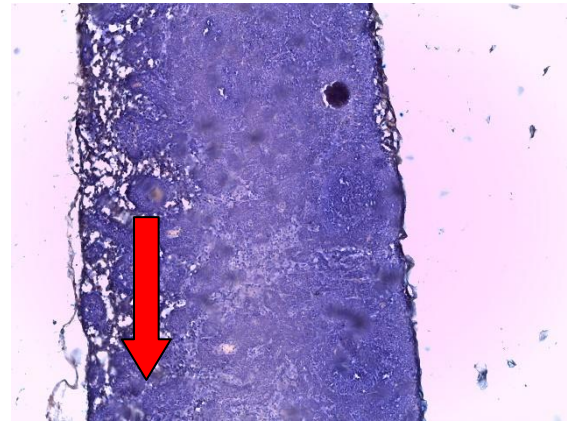


Gambar 5.2 Mikroskopik sel penghasil IFN- γ pada Kelenjar getah bening mencit pada kelompok K1-6 berwarna coklat dengan sitoplasma biru dan sel terekspresi CD 14 dengan sitoplasma merah (dgn pemeriksaan Imunohistokimia antibodi monoklonal Rat ,teknik pewarnaan Double Stain

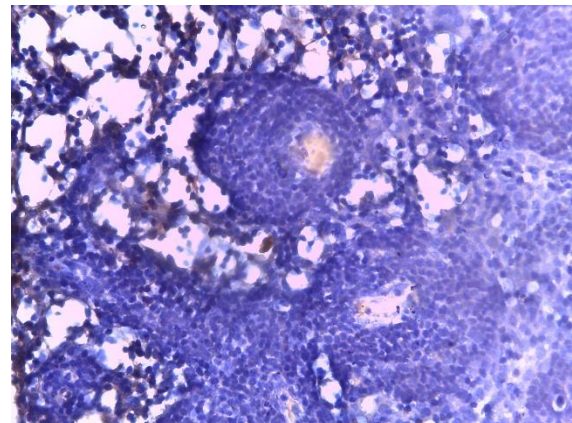
Gambar 5 .3 Mikroskopik sayatan Kelenjar Getah bening Mencit pada Kelompok 2-6. Tampak Folikel dengan daerah pulpa putih adanya proses proliferasi. Pembesaran 100 kali perwarnaan IHC Double Stain.



Gambar 5.4 Mikroskopik sel penghasil IFN- γ pada Kelenjar getah bening mencit pada kelompok K2-6 berwarna coklat dengan sitoplasma biru dan sel terekspresi CD 14 dengan sitoplasma merah .



Gambar 5.5 Mikroskopik sayatan Kelenjar Getah bening Mencit pada Kelompok 3-4. Tampak Folikel dengan daerah pulpa putih adanya proses proliferasi. Pembesaran 100 kali perwarnaan IHC Double Stain.



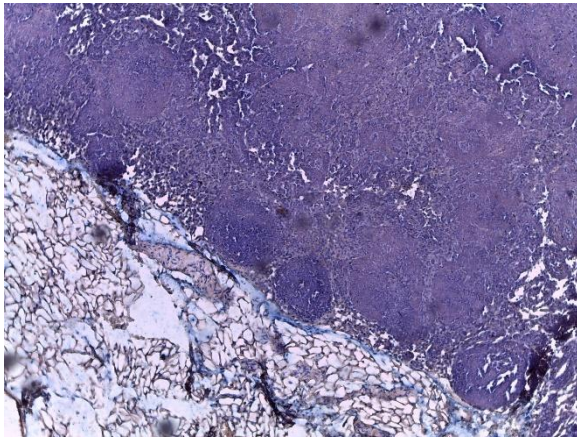
Gambar 5.6 Mikroskopik sel penghasil IFN- γ pada Kelenjar getah bening mencit pada kelompok K3-4 berwarna coklat dengan sitoplasma biru dan sel terekspresi CD 14 dengan sitoplasma merah .

keterangan gambar :

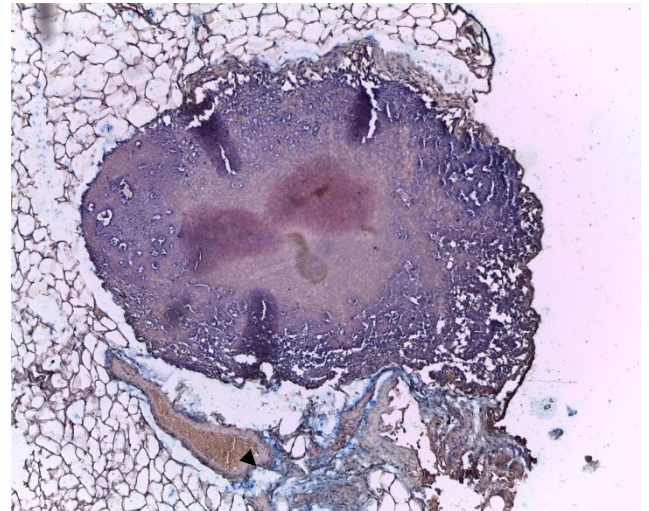
= sel penghasil IFN gamma

= sel terekspresi CD 14

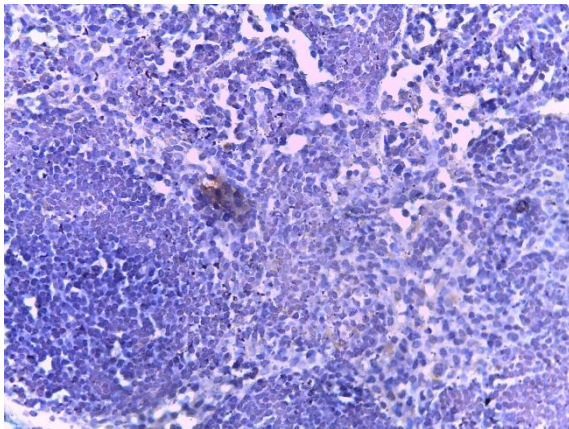




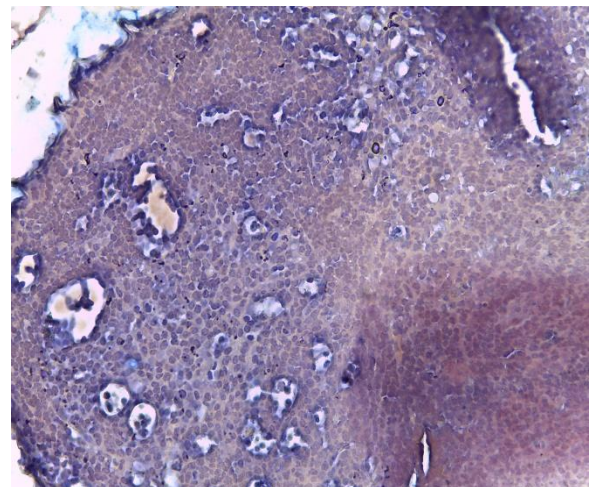
Gambar 5.7 Mikroskopik sayatan Kelenjar Getah bening Mencit pada Kelompok 4-1. Tampak Folikel dengan daerah pulpa putih adanya proses proliferasi. Pembesaran 100 kali perwarnaan IHC Double Stain.



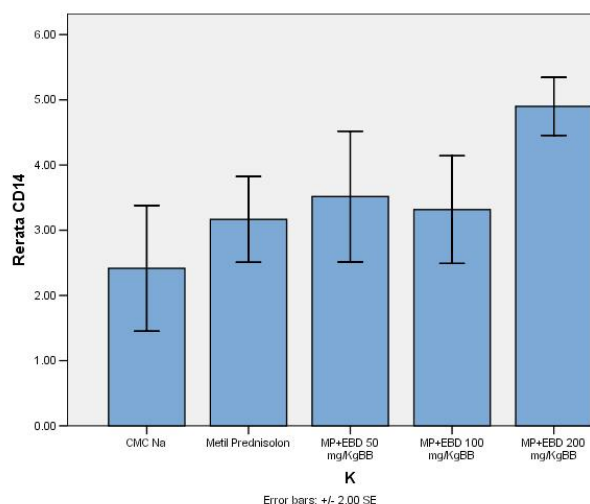
Gambar 5.9 Mikroskopik sayatan Kelenjar Getah bening Mencit pada Kelompok 5.3. Tampak Folikel dengan daerah pulpa putih adanya proses proliferasi. Pembesaran 100 kali perwarnaan IHC Double Stain.



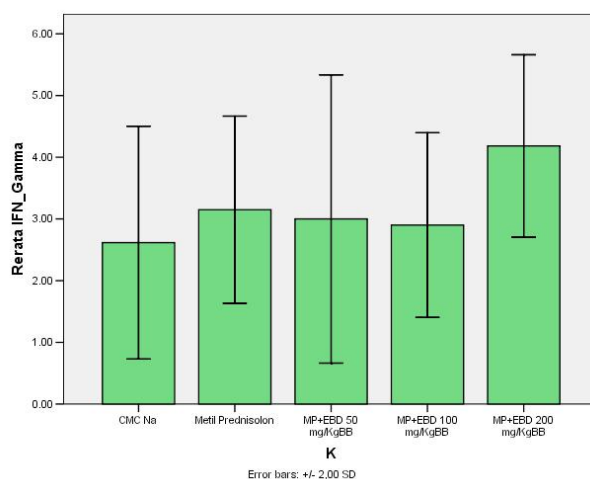
Gambar 5.8 Mikroskopik sel penghasil IFN- γ pada Kelenjar getah bening mencit pada kelompok K4-1 berwarna coklat dengan sitoplasma biru dan sel tereksresi CD 14 dengan sitoplasma merah .



Gambar 5.10 Mikroskopik sel penghasil IFN- γ pada Kelenjar getah bening mencit pada kelompok K5-3 berwarna coklat dengan sitoplasma biru dan sel tereksresi CD 14 dengan sitoplasma merah .



Grafik 5.1 Rerata Jumlah sel pengeksresi CD 14 kelompok K1,K2,K3,K4,K5



Grafik 5.2 Rerata Jumlah sel penghasil IFN- γ kelompok K1,K2,K3,K4,K5

5.2 Hubungan antara Variabel

Hasil Statistika uji korelasi terhadap semua variabel tergantung menunjukkan hubungan yang kuat dan bermakna antara jumlah sel penghasil IFN- γ dengan jumlah pengeksresi CD14 pada level 0,01 (2 tailed analisis uji korlasi pada lampiran 5.1) . Hal ini menunjukkan jika jumlah sel penghasil IFN- γ meningkat maka jumlah sel pengeksresi CD14 juga semakin meningkat atau sebaliknya.

Kelenjar adrenal mengeluarkan dua klas steroid yaitu Corticosteroid (glukokortikoid dan mineralo kortikoid) dan sex hormon. Mineralokortikoid banyak

berperan dalam pengaturan keseimbangan cairan dan elektrolit, sedang glukokortikoid berperan dalam metabolisme karbohidrat . Glukokortikoid dikeluarkan oleh korteks kelenjar adrenal yang dikeluarkan kedalam sirkulasi sebagai respon terhadap stress. Cortisol merupakan glukokortikoid utama didalam tubuh manusia.

Efek Glucocorticoid terhadap proses peradangan dan fungsi immunologis berkaitan dengan kemampuan glukokortikoid endogen dapat menekan fungsi immunologis dan dapat mengaktifasi infeksi latent. Manfaatnya antara lain mengatasi radang (antiinflamasi), menekan sistem imun dalam proses alergi, mengatur metabolisme protein dan karbohidrat, mempengaruhi kadar natrium dalam darah, dan lain-lain. Hormon ini tidak hanya diberikan pada seseorang yang mengalami kekurangan steroid alami dalam tubuhnya (misalnya penyakit Addison), tetapi juga pada keluhan asma, alergi, *rheumatoid arthritis*, gangguan pencernaan (ulkus), luka radang (inflamasi) pada mata maupun kulit, hingga mengatasi reaksi autoimun ketika dilakukan transplantasi jaringan. Oleh karena itu banyak digunakan bentuk steroid sintesis dalam praktek pengobatan berbagai penyakit seperti prednison, prednisolon, metilprednisolon, deksametason, betametason, dan triamsinolon (Rhen T., Cidlowski J.A., 2005)

Dalam upaya mengatasi penyakit inflamasi dan infeksi adalah dengan memodulasi sistem imun seluler yaitu mengaktifasi peran sel makrofag dan meningkatkan jumlah sel CD 4 sebagai penghasil sitokin *Interferon-gamma*. Dengan meningkatnya IFN- γ akan mengaktifkan sel NK (Natural Killer Cell) dan limfosit T sitotoksik / CD 8. (Falcheetti *et al.*, 2001; Choi *et al.*, 2012; Abbas *et al.*, 2012.). Umbi Bawang Dayak banyak berkhasiat mengandung senyawa-senyawa turunan naphtoquinonens dan turunannya seperti elecanacine, eleutherine, eleutherol, eleuthernone (Hara *et al* 1997) Naphtoquinonens tersebut merupakan senyawa antimikroba, antifungal, antiviral, antiparasitik serta memiliki bioaktivitas anti kanker dan anti oksidan yang terdapat dalam

sel vakuola dalam bentuk glikosida (**Babula et al 2005**).

Secara histologi, limpa dan kelenjar getah bening terdiri atas zona sel T dan zona sel B. Pada limpa dan kelenjar getah bening, limfosit mengenal fragmen antigen *non-self* yang dipresentasikan makrofag, sel dendritik dan fagosit (Subowo dalam Sulistiyana, 2015). Presentasi fragmen antigen *non-self* diikuti oleh sekresi IL-12 dan IL-18 kemudian menstimulasi sel T menghasilkan interferon- γ (INF- γ) yang mengaktifasi NK sel dan CD 8⁺ (Campbell, Sulistiyana, 2015).

Kelenjar getah bening (Nodus lymphaticus) tidak memiliki kapsel jaringan ikat yang memisahkan dengan jaringan sekitarnya. Pada sayatan sediaan, KGB mudah ditemukan karena mudah mengikat warna hematoxilin. Di bagian tengah KGB nodul biasanya berwarna lebih pucat oleh karena berisi limfosit –limfosit muda yang berukuran besar dengan inti lebih pucat. Keberadaan tergantung keadaan fungsionalnya. Apabila respons imun terhadap antigen yang masuk maka sel-sel limfosit di bagian tengah nodus lymphaticus akan membelah.

Pada penelitian ini digunakan sampel mencit strain BALB/c, umur 10 minggu dengan berat badan 25 – 30 gram, dengan jenis kelamin jantan dengan pemberian metil prednisolon 0,08 mg/30 gr BB selama 14 hari pada kelompok perlakuan 2, sedangkan pada kelompok perlakuan 1 diberikan CMC Na⁺ 0,5. Selanjutnya pada kelompok perlakuan 3 sampai dengan kelompok 5 diberikan ekstrak etanol bawang dayak masing-masing 50 mg/kgBB, 100mg/kgBB, 200 mg/kgBB serta semua mendapatkan metil prednisolon 0,08 mg/kgg BB per sonde. Setelah masa perlakuan selesai mencit dibius dengan menggunakan ketamin dengan dosis 0,025 mg/10 gr BB mencit berdasarkan dosis rata-rata 10 mg/kg BB dengan lama kerja $\pm$ 10-25 menit untuk pengambilan sampel darah. Kemudian dilakukan euthanasia dengan mematahkan tulang leher mencit. Setelah ditelusuri terdapat jaringan KGB mencit pada bagian mesenterium abdomen untuk pemeriksaan sel IFN- γ dan sel yang tereksresi CD 14 dengan metode Imunohistokimia menggunakan monoklonal antibodi IFN- γ dan CD 14 (*Rat Anti Mouse*).

Pengaruh EEUBD terhadap Pencegahan Penurunan Jumlah Sel Penghasil IFN- γ

IFN- γ merupakan sitokin utama Macrophage Activating Cytokine dan berperan dalam imunitas seluler dan non spesifik. Disamping itu IFN- γ diperlukan untuk meningkatkan aktivitas makrofag sebagai Antigen Presenting Cell agar lebih aktif dan efektif terhadap benda asing yang dipresentasikan ke permukaan sel melalui MHC kelas I dan MHC kelas II. IFN- γ mengsekresi IL-12 untuk menginduksi limfosit T helper berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi limfosit Th1 dan Th2 (Sudiana IK, 2011; Abbas *et al.*, 2012).

Hasil uji statistik dengan nilai $p < 0,05$ dimana pemberian induksi EEUBD dosis 200 mg/kgBB pada perlakuan beserta Metil Prednisolon (K-5) mampu meningkatkan jumlah sel penghasil IFN- γ secara bermakna. Hasil uji statistik juga menunjukkan analisis statistik dengan melihat korelasi pada test efek diantara dua subjek ditemukan hasil yang bermakna (signifikan) adalah 0,005 (CD14) dan kurang signifikan pada nilai 0,054 (IFN- γ). Meskipun demikian induksi metil prednisolon dengan EEUBD (K3, K4, K5) dapat dikatakan meningkatkan jumlah sel penghasil IFN- γ atau mampu mencegah penurunan jumlah sel penghasil IFN- γ .

Berdasarkan uji statistik di atas dapat dikatakan semakin tinggi dosis EEUBD yang diinduksikan mampu meningkatkan jumlah sel penghasil IFN- γ atau dapat juga dikatakan memiliki kemampuan mencegah penurunan jumlah sel penghasil IFN- γ . Namun demikian terhadap penelitian ini nilai IFN- γ memiliki kecenderungan sedikit kurang bermakna dibanding CD 14, hal ini kemungkinan karena dosis EEUBD belum mampu menginduksi peningkatan jumlah IFN- γ dan jumlah sel yang diinduksi tidak memadai terikat dengan baik atau tidak teraktivasi. Sehingga bisa mempengaruhi jumlah induksi terhadap NK cell juga sedikit kurang bermakna, karena IFN- γ mengaktifasi NK cell.

Pengaruh EEUBD terhadap Peningkatan Jumlah Sel Pengeksresi CD14 / Aktivasi Makrofag

Pada penelitian ini hasil statistik Uji Komparasi Ganda dengan *Post Hoc Tests*

Games-Howell dari jumlah sel pengeksresi CD14 tabel 5.4 di atas, menunjukkan hasil yang bermakna /signifikan pada $p < 0,05$ (0,04) pada kelompok perlakuan bila pemberian EBD 200 mg/KgBB terhadap pemberian obat Metil Prednisolon. Juga ditemukan peningkatan jumlah sel pengeksresi CD 4 secara bermakna pada uji LSD pada pemberian pada perlakuan K2-5 dan K5-2 dimana pada dosis EEUBD 200 mg/kgBB. Pada nilai rerata /means dan simpangan baku /Std deviation bahwa CD 14 lebih meningkat daripada nilai IFN- γ .

Berdasarkan uji statistik di atas juga menunjukkan bahwa nilai yang lebih bermakna dari induksi EEUBD terhadap penelitian ini adalah pada peningkatan jumlah sel yang mengekspresikan CD 14 lebih memberi nilai yang bermakna. Hal ini dimungkinkan juga pengaruh induksi dengan dosis 200 mg/kg BB merupakan dosis yang sesuai dengan dosis terapi yang diharapkan.

Senyawa flavonoid dalam EEUBD bersifat imunostimulan, antiviral, anti bakteri, mengurangi resiko penyakit kardiovaskular, anti inflamasi. Stimulasi sistem imun diatur dengan regulasi sel T limfosit disini adalah Th-1 (CD 4+) yang meningkat karena bersifat proteksi terhadap antigen akan memproduksi sitokin yang mengaktifasi makrofag dan merangsang inflamasi. Pada penelitian ini fungsi efektor diperankan oleh sel yang mengekspresikan CD 14 (aktivasi makrofag) dan terdapat komunikasi antara sel T dengan sel yang mengekspresikan CD 14 yang berlangsung melalui sitokin.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas A.K, Andrew H.L, 1994. Cellular and Molecular Immunology. 2nd edition, USA: W.B.Saunders Company
- Andi F.2014. Antioxidants and Antidiabetics Potency of Aqueous and Ethanolic Extracts of Bawang Dayak Bulbs (*Eleutherine palmifolia*) in vitro and in vivo. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Indonesia
- Arnida,Sutomo,2008. Pengaruh Fraksi Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*(L.,) Merr.) Terhadap Aktivitas Diuretika Dan Peluruh Batu Ginjal Tikus Putih Jantan. Sains Dan Terapan Kimia 2008; 3(2): 134-43
- Arung ET,Kusuma IW,Christy EO,Shimizu K,Kondo R,2009. Evaluation of medicinal plants from Central Kalimantan for antimelanogenesis Journal of Natural Medicines, Volume 63,pp 473-480
- Azis AL, 2006. Penggunaan kortikosteroid di klinik-pediatrik. Universitas Airlangga. Indonesia
- Baratawidjaja, Karmen Garna,2004. Imunologi Dasar. Edisi 6. Jakarta:Universitas Indonesia
- Budiarto E,2001. Biostatiska untuk Kedokteran dan Kesehatan Masyarakat. EGC: Jakarta
- Fedik A.R,2003. Metode Imunologi
- Febrinda A E, Astawan M, Wresdiyati T, and Yuliana N D, 2013. [http://Kapasitas antioksidan dan inhibitor alfa glukosidase .blogspot.com/2013/4/ekstrak umbi bawang dayak html](http://Kapasitasantioksidan%20dan%20inhibitor%20alfa%20glukosidase.blogspot.com/2013/4/ekstrak%20umbibawang%20dayak.html). Diakses pada April 2015.
- Fitri Y.Suwarso E,2014. Effects of Inhibition Cell Cycle and Apoptosis of Sabrang Onion extract (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) on Breast Cancer Cells. International Journal of PharmTech Research CODEN (USA) : IJPRIF ISSN : 0974-4304 Vol.6,No.4,pp 1392-1396
- Firdaus T, 2014.Efektivitas Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia*) Dalam menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Indonesia
- Gordon T, Michael H, 2013. Statistik Kedokteran. Edisi 2. Jakarta :Binarupa Aksara Publisher
- Muliatie,2012. Pemanfaatan Tumbuhan Sebagai Obat Oleh suku Dayak Ngaju

- Di Desa Bukit Rawi Kalimantan Tengah. Tesis. Universitas Palangka Raya. Indonesia
- Mierza V, Suryanto D, Nasution MP, 2011. Skrining Fitokimia Dan Uji Efek Anti bakteri Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak Sabrang (*Eleutherine palmifolia* Merr.). Medan: Universitas Sumatera Utara, 340-353
- Nur AM, 2011. Kapasitas Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Dalam Bentuk Segar, Simplisia, dan Keripik, Pada Pelarut Nonpolar, Semipolar dan Polar. Skripsi. Bogor : Institut Pertanian Bogor
- Subowo, 2014. *Imunobiologi* . Edisi 3. Sagung Seto. Bandung : 18-19, 54-55, 342-343.
- Sudiana IK, 2005. *Teknologi Ilmu Jaringan dan Imunohistokimia* .Jakarta : Sagung Seto, 1-46
- Sudiana Ik, 2014. *Imunopatobiologi Molekuler*. Surabaya : Airlangga University Press, 54-55
- Siti Boedina Kresno, 2010. *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium* . Edisi 5. Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta, 57, 70-71, 79, 87, 119
- Sutanto PH, 2007. *Analisis Data Kesehatan (Basic Data Analysis for Health Research Training)*. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia
- Suhrman S, Winarti C, 2004. *Prospek Dan Fungsi Tanaman Obat Sebagai Imunomodulator*. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, 3-40
- Sumarwoto T, 2004. Efek Pemberian Ekstrak Kedelai Dalam Menghambat Penurunan Kepadatan Tulang Pada Terapi Kortikosteroid Jangka Panjang Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). Tesis. Universitas Airlangga
- Yusni MA, 2008. Perbedaan Pengaruh Pemberian Fraksi Etanolik Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* L. Merr) dengan 5-Fluorourasil terhadap Penghambatan Pertumbuhan Galur sel Karsinoma Kolon HT29 dan Ekspresi p53 Mutan. Tesis. Universitas Sebelas Maret Indonesia.