

**Potensi Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) Sebagai
Imunosupresan Sel Limfosit pada Mencit (*Mus musculus L.*)**

Skripsi



Lawrence Billy Vasco Djama

31170132

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2021**

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Lawrence Billy Vasco Djama
NIM : 31170132
Program studi : Biologi
Fakultas : Bioteknologi
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*None-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**“POTENSI EKSTRAK KEDELAI (*Glycine max*) SEBAGAI
IMUNOSUPRESAN SEL LIMFOSIT PADA MENCIT (*Mus musculus L.*)”**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta
Pada Tanggal : 30 Agustus 2021

Yang menyatakan



(Lawrence Billy Vasco Djama)

NIM. 31170132

**Potensi Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) Sebagai
Imunosupresan Sel Limfosit pada Mencit (*Mus musculus L.*)**

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Sains (S.Si)

Pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



Lawrence Billy Vasco Djama

31170132

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta**

2021

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

POTENSI EKSTRAK KEDELAI (*Glycine mac*) SEBAGAI IMUNOSUPRESAN
SEL LIMFOSIT PADA MENCIT (*Mus musculus L.*)

Telah diajukan dan dipertahankan oleh:

LAWRENCE BILLY VASCO DJAMA

31170132

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

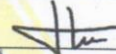
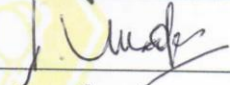

dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar

Sarjana Sains pada tanggal 14 Agustus 2021

Nama Dosen

1. Prof. Dr. Laurentius Hartanto Nugroho, M.Agr.
(Penguji 1 / Ketua Tim)
2. Kukuh Madyaningrana, S.Si., M.Biotech.
(Dosen Pembimbing 1 / Penguji 2)
3. drh. Vinsa Cantya Prakasita, SKH, M.Sc.
(Dosen Pembimbing 2 / Penguji 3)

Tanda Tangan

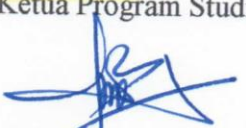




Yogyakarta, 30 Agustus 2021

Disahkan Oleh:


Dekan,

(Drs. Kisworo, M.Sc.)
NIK. 874 E 054

Ketua Program Studi,

(Dra. Aniek Presetyaningsih, M.Si.)
NIK: 884 E 075

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul :Potensi Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) Sebagai Imunosupresan Sel Limfosit pada Mencit (*Mus musculus* L.)

Nama Mahasiswa : Lawrence Billy Vasco Djama

Nomor Induk Mahasiswa : 31170132

Hari/Tanggal Ujian : Sabtu, 14 Agustus 2021

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



(Kukuh Madyaningrana, S.Si., M.Biotech.)
194KE424



(drh. Vinsa Cantya Prakasita, M.Sc.)
201904423

Ketua Program Studi



(Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si.)

884E075

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

“Potensi Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) Sebagai Imunosupresan Sel Limfosit pada Mencit (*Mus musculus L.*)”

Adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagai atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar Pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-bemarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.



(Lawrence Billy Vasco Djama)

NIM: 31170132

KATA PENGANTAR

Segala kemuliaan hanya bagi Tuhan karena kebaikan, penyertaan, pemeliharaan, dan kasih karuniaNya, sehingga skripsi dengan judul POTENSI EKSTRAK KEDELAI (*Glycine max*) SEBAGAI IMUNOSUPRESAN SEL LIMFOSIT PADA MENCIT (*Mus musculus* L.) dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana bagi mahasiswa Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta.

Dalam pengerjaannya, skripsi ini mendapat banyak bantuan dan atensi dari berbagai pihak. Untuk itu, pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Drs. Kisworo, M.Sc., selaku Dekan Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta.
2. Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta.
3. Prof. Dr. Drs. Laurentius Hartanto Nugroho, M.Agr., selaku ketua dewan penguji sidang skripsi yang memberikan masukan dalam penelitian ini.
4. Kukuh Madyaningraha, S.Si., M.Biotech. dan drh. Vinsa Cantya Prakasita, SKH., M.Sc., selaku dosen pembimbing yang mengarahkan dan membantu penulis dalam menyelesaikan tugas skripsi ini.
5. Kedua orang tua penulis, Maxs Djama dan Omelia Marimbunna, yang selalu memberikan dukungan, doa, serta sponsor dana dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.
6. Teman-teman yang terlibat langsung membantu dalam penelitian ini, My Mijn Been Oey Yedida Stephanie Sugianto, S.Ked., Katharine Hana Christian Pantoro, S.Si., Christo Alvido Latuny, S.Si., Jade Sephtimoranie, S.Si., dan Christine Stefani Cleorata Tamelan.
7. Teman-teman Fabio, Numero UNO squad, Kelas Bethesda dan Anak Tuhan. Teman-teman BEMF Bioteknologi 2019, dan Teman-teman BPMU 2020.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini terdapat banyak sekali kekurangan, sehingga memerlukan adanya saran dan kritik yang membangun untuk menyempurnakan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap agar skripsi ini dapat menjadi berguna dan bermanfaat bagi banyak pihak.

Yogyakarta, 16 Agustus 2021



Lawrence Billy Vasco Djama

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DEPAN	i
HALAMAN SAMPUL BAGIAN DALAM	ii
LEMBAR PENGESAHAN TIM PENGUJI	iii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusah Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Hipotesis	4
BAB II	5
2.1 Kedelai (<i>Glycine max</i>)	5
2.1.1 Morfologi Tanaman	6
2.1.2 Kandungan Fitokimia	8
2.1.3 Stigmasterol	8
2.2 Sistem Kekebalan Tubuh	10
2.2.1 Mekanisme Pertahanan	11
2.3 Penyakit Autoimun	14
2.3.1 Penyebab Penyakit Autoimun	15

2.4	Imunomodulator.....	16
2.4.1	Imunosupresan	17
2.5	Antigen.....	18
2.5.1	Antigen Eksogen.....	19
2.6	Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	19
BAB III.....		22
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
3.2	Desain Penelitian	22
3.3	Alat dan Bahan	23
3.4	Jenis dan Sumber Data.....	24
3.5	Cara Kerja.....	24
3.5.1	Preparasi dan Ekstraksi Biji Kedelai.....	24
3.5.2	Deteksi Stigmasterol dalam Ekstrak Kedelai	25
3.5.3	Pembuatan Suspensi Darah Merah Domba 1% (SDMD 1%)	25
3.5.4	Perlakuan dan Aklimatisasi Hewan Uji.....	25
3.5.5	Pembuatan Formula Perlakuan Oral	27
3.5.6	Perlakuan Hewan Uji.....	28
3.5.7	Apusan Darah.....	29
3.5.8	Analisis Morfometrik	30
3.5.9	Analisis Hematologi.....	30
3.6	Analisis Data.....	30
3.7	Bagan Alir Penelitian	31
BAB IV		32
4.1	Preparasi Ekstrak Kedelai dan Deteksi Jumlah Stigmasterolnya	32
4.2	Efek Induksi SDMD 1% pada Sistem Imun Mencit	34
4.3	Pengaruh Perlakuan EK dan STG pada ukuran Morfometrik Mencit	36
4.4	Potensi EK dan STG sebagai Imunosupresan berdasarkan nilai Hematologi	43
BAB V.....		54
5.1	Simpulan.....	54
5.2	Saran.....	54

DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	72

©UKPDW

DAFTAR TABEL

Nomor Tabel	Judul Tabel	Halaman
2.1	Klasifikasi Kedelai	5
2.2	Komponen Sistem Imun	12
2.3	Taksonomi Mencit	21
3.3	Kelompok Perlakuan dan Dosis	26
3.2	Komposisi Dosis Perlakuan	27
4.1	Perhitungan jumlah stigmasterol berdasarkan rasio area sampel terhadap area baku stigmasterol $0,1 \mu\text{g/ml} = 7818$	34
4.2	Pengaruh perlakuan EK dan STG terhadap berat badan.	37
4.3	Sebaran persentase jumlah sel terhadap jumlah total leukosit	50

DAFTAR GAMBAR

Nomor Gambar	Judul Gambar	Halaman
2.1	Morfologi Bintil Akar pada Akar Kedelai	6
2.2	Varites Biji Kedelai	7
2.3	Struktur Kimia Stigmasterol	9
2.4	Komponen Sistem Imun	11
2.5	Suspensi SDMD 1%	19
2.6	Mencit (<i>Mus musculus</i>)	20
3.1	Penampang Sistem Organ Mencit	29
3.2	Diagram Alir Penelitian	31
4.1	Kromatogram Ekstrak Kedelai	33
4.2	Ekstrak Kedelai	34
4.3	Jumlah limfosit dalam darah hari ke-9 dengan metode apusan darah	35
4.4	Pengaruh perlakuan EK dan STG terhadap indeks berat organ	39
4.5	Pengaruh perlakuan EK dan STG terhadap berat organ	40
4.6	Morfologi <i>splen</i>	42
4.7	Tampang histologi <i>ren</i> dan <i>hepar</i>	43
4.8	Sel leukosit yang diamati dengan metode apusan darah	44
4.9	Jumlah limfosit dalam darah metode apusan	45

4.10	Perbandingan jumlah limfosit darah hari ke-24 antara metode hemoanalyzer	46
4.11	Jumlah monosit dalam darah metode apusan	47
4.12	Jumlah neutrofil dalam darah metode apusan	48
4.13	Perbandingan jumlah neutrofil darah hari ke-24 antara metode hemoanalyzer	50
4.14.	Jumlah leukosit dengan metode analisis hemoanalyzer	52

©UKDWN

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Lampiran	Judul Lampiran	Halaman
1	Hasil uji ANOVA berat badan mencit	72
2	Hasil uji Duncan berat badan mencit	72
3	Hasil uji ANOVA berat organ	73
4	Hasil uji LSD berat organ	73
5	Hasil uji Duncan berat organ	79
6	Hubungan dan pengaruh berat badan terhadap induksi SDMD	80
7	Hubungan dan pengaruh berat badan terhadap perlakuan	81
8	Hubungan berat badan dan berat organ	81
9	Pengaruh induksi SDMD terhadap jumlah limfosit H-9	82
10	Hasil uji ANOVA limfosit metode apusan darah	82
11	Hasil uji LSD limfosit metode apusan darah	83
12	Hasil uji Duncan limfosit metode apusan darah	88
13	Hasil uji ANOVA monosit metode apusan darah	89
14	Hasil uji LSD monosit metode apusan darah	90
15	Hasil uji Duncan monosit metode apusan darah	95
16	Hasil uji ANOVA neutrofil metode apusan darah	97
17	Hasil uji LSD neutrofil metode apusan darah	97
18	Hasil uji Duncan neutrofil metode apusan darah	102

19	Hubungan dan pengaruh perlakuan terhadap jumlah limfosit metode apusan darah	104
20	Hubungan dan pengaruh perlakuan terhadap jumlah monosit metode apusan darah	104
21	Hubungan dan pengaruh perlakuan terhadap jumlah neutrofil metode apusan darah	105
22	Hasil uji ANOVA hematologi	105
23	Hasil uji LSD hematologi	107
24	Hasil uji Duncan hematologi	126
25	Hubungan jumlah limfosit, monosit, dan neutrofil metode apusan darah	130
26	Data Hematologi Metode Apusan Darah	131
27	Data Morfometrik	135
29	Data Hematologi Metode Hemoanalizer	137
30	Keterangan Kelaikan Etik	154
31	Formulir Pemantauan Skripsi	155

ABSTRAK

Penyakit autoimun adalah salah satu penyakit yang belum memiliki obat definitive sehingga terapi menggunakan imunosupresan masih menjadi andalan hingga saat ini. Kedelai (*Glycine max*) merupakan sedikit dari banyak tanaman berkhasiat obat yang pemanfaatannya hanya sekedar sebagai pangan fungsional. Senyawa stigmasterol merupakan salah satu senyawa dalam kedelai yang memiliki potensi menjadi imunosupresan untuk menghambat proliferasi maupun dideferensiasi limfosit. Penelitian ini bertujuan mengetahui potensi kedelai sebagai imunosupresan alami. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang digunakan dengan pelarut aquadest. Ekstrak yang diperoleh dari 2,5 kg simplisia dalam 12,5 l pelarut ialah 450 g ekstrak. Kadar stigmasterol dalam ekstrak dengan metode HPLC diperoleh sebesar 0,023 mg/g. Ekstrak kedelai diberikan secara peroral pada mencit dengan dosis 10, 50 dan 100 mg/BB/hari selama 14 hari. Stigmasterol murni juga digunakan pada dosis yang sama guna membuktikan peranan senyawa stigmasterol dalam mensupresi imun. Mencit diinjeksi menggunakan Sel Darah Merah Domba (SDMD) 1% sebanyak 0,1 ml pada hari ke-0 dan hari ke-10 (*booster*) pada semua kelompok terkecuali K-, guna menstimulus limfosit sebelum diberikan perlakuan. Analisis secara *One Way* ANOVA menunjukkan adanya pengaruh dosis ekstrak terhadap jumlah limfosit. Berdasarkan parameter morfometrik berat badan, mencit perlakuan EK100 (6,33 g) dan STG100 (5,33 g) memiliki pertambahan terbesar. Sementara dari berat organ, tidak ada pengaruh perlakuan ekstrak maupun stigmasterol terhadap pertambahan berat organ signifikan $p < 0,05$ (splen, ren, dan hepar). Berdasarkan parameter hematologi, mencit yang diberikan perlakuan STG10 (20,00/sel \pm 8,00) memiliki jumlah limfosit terendah diikuti oleh kelompok mencit perlakuan EK100 (20,67/sel \pm 10,07) dengan selisih yang tidak jauh berbeda. Jumlah limfosit tertinggi ada pada kelompok K- (48,00/sel \pm 5,66).

Kata Kunci: Kedelai, Stigmasterol, Sel Darah Merah Domba, Limfosit, Morfometrik.

ABSTRACT

Autoimmune disease is one of the diseases for which there is no definitive cure, so therapy using immunosuppressants is still the mainstay until now. Soybean (*Glycine max*) is a few of the many medicinal plants whose use is only as a functional food. The stigmaterol compound is one of the compounds in soybeans that has the potential to be an immunosuppressant to inhibit the proliferation and differentiation of lymphocytes. This study aims to determine the potential of soybean as a natural immunosuppressant. Maceration is an extraction method used with distilled water as a solvent. The extract obtained from 2.5 kg of simplicia in 12.5 l of solvent was 450 g of extract. The level of stigmaterol in the extract using the HPLC method was 0.023 mg/g. Soybean extract was given orally to mice at doses of 10, 50 and 100 mg/BW/day for 14 days. Pure stigmaterol was also used at the same dose to prove the role of stigmaterol compounds in immune suppression. Mice were injected using 0.1 ml Sheep Red Blood Cells (SDMD) on day 0 and day 10 (booster) in all groups except K-, to stimulate lymphocytes before being given treatment. One Way ANOVA analysis showed that there was an effect of extract dose on the number of lymphocytes. Based on the morphometric parameters of body weight, EK100 (6.33 g) and STG100 (5.33 g) treated mice had the largest increase. Meanwhile, from organ weight, there was no effect of extract or stigmaterol treatment on significant organ weight gain $p < 0.05$ (splen, ren, and liver). Based on the hematological parameters, the mice treated with STG10 (20.00/cell \pm 8.00) had the lowest number of lymphocytes, followed by the group of mice treated with EK100 (20.67/cell \pm 10.07) with not much difference. The highest number of lymphocytes was in the K- group (48.00/cell \pm 5.66).

Keywords: Soybean, Stigmaterol, Sheep Red Blood Cells, Lymphocytes, Morphometric.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pola hidup masyarakat moderen bergerak secara cepat dan juga instan. Hal tersebut tak ayal membuat sistem kekebalan dalam tubuh merespon pola hidup tersebut. Buruknya kualitas makanan dan udara, kurangnya berolahraga, dan tingginya angka stress membuat tubuh rentan terserang mikroba patogen seperti virus, bakteri, parasite, dan jamur yang berujung pada penyakit infeksi, degeneratif dan penuaan dini akan direspon oleh sistem kekebalan tubuh baik itu secara *innate immunity system* (sistem pertahanan bawaan) ataupun *adaptive immunity system* (sistem pertahanan adaptif). Studi tentang sistem kekebalan tubuh tersebut dipelajari dalam satu bidang ilmu khusus yang disebut Immunologi (Coffman *et al.*, 2010; Suhirman dan Winarti, 2010).

Data yang dirilis oleh *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2014 menyebutkan bahwa penyakit infeksius adalah penyebab kematian kedua didunia setelah kerdiovaskular yang menandakan bahwa imunitas memiliki peranan yang penting dalam pertahanan tubuh, sebab kurangnya jumlah dan fungsi sel imun akan meningkatkan faktor risiko. Tapi perlu diketahui bahwa 3-5% populasi dunia atau 234-390 juta jiwa didunia mengidap penyakit autoimun. (James *et al.*, 2008; Júnior *et al.*, 2019; Davidson dan Diamond, 2001). Penyakit autoimun merupakan kondisi sistem kekebalan tubuh dalam mempertahankan kestabilannya, sehingga sistem imun menganggap bagian tubuh sehat sebagai benda asing yang harus dimusnahkan. Kelainan tersebut tentu sangat merugikan penderita karena organ-organ sel yang sehat akan menjadi rusak (Waluyo, 2014; Setiawan *et al.*, 2019; Whitacre, 2001). Ada lebih dari 80 penyakit yang digolongkan seagai penyakit autoimun, yang paling sering ditemukan seperti *Temporal Arteritis*, *Rheumatoid Arthritis*, *Vasculitis*, *Systemic Lupus Erythematosus*, *Alopecia Areata*, *Celiac*

Disease, Diabetic Type 1, Sjögren Syndrome, Ankylosing Spondylitis, Polymyalgia Rheumatica, Multiple Sclerosis dan lain sebagainya (Bach, 1994; Tan *et al.*, 1982).

Penyebab utama dari penyakit autoimun itu sendiri masih belum diketahui pasti, sehingga pengobatannya pun masih belum ditemukan. Kendati demikian, ada beberapa metode atau terapi yang dapat dilakukan untuk mengurangi risiko bagi penderita yang salah satunya ialah dengan menghambat produksi limfosit (sistem imun). Terhambatnya limfosit akan linier dengan kemampuan proliferasi dan diferensiasi sel T *naïve* menjadi sel T CD8⁺ dan CD4⁺ yang spesifik menjadi sel T_c yang berperan dalam mengeliminasi antigen yang menginfeksi tubuh (Rifa'i *et al.*, 2008; Fransson *et al.*, 2012). Senyawa flavonoid berupa stigmasterol dikatakan berpotensi untuk menghambat produksi limfosit. Senyawa stigmasterol banyak ditemukan dan bahkan menjadi kompoen utama dari sterol tanaman kedelai (*Glycine max*) (Ferrer *et al.*, 2017; Aboobucker dan Suza, 2019; Krisnawati, 2017).

Penelitian Roffico dan Djati (2014) tentang efektivitas pemberian ekstrak ethanol daun *Polyscias obtusa* dan *Elephantopus scaber* terhadap modulasi sel T CD4⁺ dan CD8⁺ pada mencit bunting BALB/c menyatakan bahwa, berdasarkan jumlah sel T CD4⁺ dan CD8⁺ mencit yang diberi perlakuan, tidak dapat ditentukan dosis optimum untuk meningkatkan imun dikarenakan adanya potensi senyawa *panaxadiol* dalam *Polyscias obtuse* dan senyawa stigmasterol dalam *Elephantopus scaber* sebagai immunosupresan. Asfi dan Djati (2014) juga mengungkapkan hasil yang senada dimana dalam penelitian tentang perkembangan sel T CD4 dan CD62L pada organ *splen* mencit yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* setelah pemberian ekstrak ethanol daun *Polyscias obtusa* dan *Elephantopus scaber* menyatakan bahwa formula 50%:50% dari dosis awal 50 mg/KgBB mampu memberikan efek immunosupresan dan mampu meningkatkan proliferasi sel T CD4⁺ *naïve*.

Kendati demikian, peneliti tersebut hanya berasumsi bahwa senyawa stigmasterol yang dikandung *Elephantopus scaber* bila dikombinasikan dengan

senyawa panaxadiol yang dikandung dalam *Polyscias obtuse* pada dosis tertentu akan memberikan efek immunosupresan, sehingga penelitian lebih lanjut mengenai peranan stigmasterol dalam mensupresi imun perlu dilakukan. Kedelai adalah salah satu tanaman yang mengandung banyak stigmasterol. Pada penelitian ini kedelai digunakan karena mudah diperoleh.

Disamping mengingat pula besarnya pengidap penyakit autoimun, maka sangat perlu dilakukan penelitian akan senyawa alami yang potensial untuk menjadi immunosupresan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak kedelai yang kaya akan stigmasterol dalam menghambat pembentukan sel limfosit dari mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi Sel Darah Merah Domba (SDMS) 1%.

1.2 Rumusah Masalah

- 1.2.1 Berapakah kandungan stigmasterol dalam ekstrak kedelai?
- 1.2.2 Apakah ekstrak kedelai dan stigmasterol dengan dosis 10, 50, 100 mg/BB/hari dapat menghambat jumlah limfosit sebagai respon imun mencit yang diinduksi Sel Darah Merah Domba (SDMD)?
- 1.2.3 Pada dosis berapakah jumlah limfosit sebagai respon imun limfosit mencit yang diinduksi Sel Darah Merah Domba (SDMD) dapat paling dihambat?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mempelajari kandungan stigmasterol dalam ekstrak kedelai.
- 1.3.2 Mempelajari pengaruh ekstrak kedelai dan stigmasterol terhadap respon imun limfosit mencit yang diinduksi Sel Darah Merah Domba (SDMD).
- 1.3.3 Mengetahui pada dosis berapakah ekstrak kedelai dapat menghambat respon imun limfosit mencit yang diinduksi SDMD paling optimal.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah:

1.4.1 Sebagai informasi kepada peneliti akan potensi stigmasterol dan kedelai sebagai immunosupresan limfosit serta membukanya peluang baru akan pemanfaatan kedelai dalam bidang kesehatan.

1.4.2 Sebagai informasi kepada masyarakat umum akan efek lain yang ditimbulkan bila mengkonsumsi kedelai pada dosis tertentu.

1.5 Hipotesis

Dari penelitian ini, hipotesis yang dapat diuji adalah terdapatnya pengaruh ekstrak kedelai terhadap penurunan jumlah sel limfosit sebagai wujud respon imun menci yang diinduksi SDMD.

©UKDWN

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka kesimpulan yang diambil sebagai berikut:

- 5.1.1 Jumlah stigmasterol dalam ekstrak kedelai dengan pelarut aquadest adalah sebesar 0,023 mg/g. Angka ini terbilang kecil mengingat aquadest adalah pelarut yang netral, penggunaan pelarut polar akan meningkatkan jumlah stigmasterol dalam ekstrak.
- 5.1.2 Stigmasterol mampu berperan sebagai immunosupresan yang dibuktikan dengan hasil pengukuran nilai hematologi jumlah sel limfosit. Dari penelitian ini dosis 50 mg/BB/hari yang paling optimal dalam mensupresi imun.
- 5.1.3 Ekstrak kedelai kelompok perlakuan EK100 (100mg/BB/hari) adalah yang paling baik dalam mensupresi imun. Hal ini dikarenakan pada dosis 100 kandungan stigmasterol didalamnya pun menjadi lebih tinggi.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai penentuan dosis optimal dalam mensupresi imun baik untuk kelompok perlakuan ekstrak kedelai ataupun kelompok perlakuan stigmasterol, dengan memperhatikan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil seperti instrument alat yang terkalibrasi, serta penanganan sampel (suhu dan durasi penyimpanan). Perlu juga dilakukan studi lebih lanjut mengenai sel limfosit jenis apa yang disupresi oleh ekstrak kedelai dan stigmasterol.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and Pillai, S., 2015. Cellular and Molecular Immunology Eight Edition. *Eight Edit. (Merritt J, ed.). Canada: Elsevier Inc. Saunders.*
- Aboobucker, S.I. and Suza, W.P., 2019. Why do plants convert sitosterol to stigmasterol? *Frontiers in plant science*, 10, p.354.
- ACIAR (Australian Centre for International Agriculture Research), 2011. Soybean. Blue Star Print. Canberra.
- Adie, M.M. dan Krisnawati, A., 2010. Biologi Tanaman Kedelai. Malang: Balai Penelitian Tanaman Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian.
- Adisarwanto, T., 2008. Budidaya kedelai tropika. *Penebar Swadaya. Jakarta*, 76.
- Aderem, A. and Underhill, D.M., 1999. Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annual review of immunology*, 17(1), pp.593-623.
- Ahsani, D.N., 2014. Respon Imun Pada Infeksi Jamur. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 6(2), pp.55-65.
- Anas, Y., Pramesti, D., Nisa, S.W. and Hidayati, D.N., 2017. EFEK EKSTRAK ETANOL BIJI KEDELAI (*Glicyne max (L.) Merr*) SEBAGAI ANTIKOLESTEROL DAN ANTI OBESITAS PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI MSG DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIFNYA. *Prosiding SNST Fakultas Teknik*, 1(1).
- Ardina, R. and Rosalinda, S., 2018. Morfologi eosinofil pada apusan darah tepi menggunakan pewarnaan giemsa, wright, dan kombinasi wright-giemsa. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 3(2), pp.5-12.
- Arif, M., 2009. Penuntun Praktikum Hematologi. Universitas Hasanuddin.

- Arron, J.R. and Choi, Y., 2000. Bone versus immune system. *Nature*, 408(6812), pp.535-536.
- Bach, J.F., 1994. Insulin-dependent diabetes mellitus as an autoimmune disease. *Endocrine reviews*, 15(4), pp.516-542.
- Baker, R.O., Bodman, G.R. and Timm, R.M., 1994. Rodent-proof construction and exclusion methods.
- Berry, R.J., 1970. The natural history of the house mouse. *Field Study*, 3, pp.219-262.
- Bender, D.A., Heilbronner, S.P., Wang, T.J., Shu, C.A., Hyde, B., Spina, C. and Cheng, S.K., 2020. Increased rates of immunosuppressive treatment and hospitalization after checkpoint inhibitor therapy in cancer patients with autoimmune disease. *Journal for immunotherapy of cancer*, 8(2).
- Bratawidjaya, K.G. 1996. *Immunologi Dasar*. Jakarta. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Buluş, A.D., Aşci, A., Erkekoglu, P., Balci, A., Andiran, N. and Koçer-Gümüşel, B., 2016. The evaluation of possible role of endocrine disruptors in central and peripheral precocious puberty. *Toxicology mechanisms and methods*, 26(7), pp.493-500.
- Burt, R.K., Traynor, A.E., Pope, R., Schroeder, J., Cohen, B., Karlin, K.H., Lobeck, L., Goolsby, C., Rowlings, P., Davis, F.A. and Stefoski, D., 1998. Treatment of autoimmune disease by intense immunosuppressive conditioning and autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 92(10), pp.3505-3514.
- Choi, J., Shin, M.H., Park, K.Y., Lee, K.T., Jung, H.J., Lee, M.S. and Park, H.J., 2004. Effect of kaikasaponin III obtained from *Pueraria thunbergiana* flowers on serum

- and hepatic lipid peroxides and tissue factor activity in the streptozotocin-induced diabetic rat. *Journal of medicinal food*, 7(1), pp.31-37.
- Choo, S.Y., 2007. The HLA system: genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications. *Yonsei medical journal*, 48(1), pp.11-23.
- Clauss, M., 2012. Clinical technique: feeding hay to rabbits and rodents. *Journal of exotic pet medicine*, 21(1), pp.80-86.
- Coffman, R.L., Sher, A. and Seder, R.A., 2010. Vaccine adjuvants: putting innate immunity to work. *Immunity*, 33(4), pp.492-503.
- Cole, R.N., Reddel, S.W., Gervásio, O.L. and Phillips, W.D., 2008. Anti-MuSK patient antibodies disrupt the mouse neuromuscular junction. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 63(6), pp.782-789.
- Cole, R.N., Ghazanfari, N., Ngo, S.T., Gervasio, O.L., Reddel, S.W. and Phillips, W.D., 2010. Patient autoantibodies deplete postsynaptic muscle-specific kinase leading to disassembly of the ACh receptor scaffold and myasthenia gravis in mice. *The Journal of physiology*, 588(17), pp.3217-3229.
- Cora, M.C., King, D., Betz, L.J., Wilson, R. and Travlos, G.S., 2012. Artifactual changes in sprague-dawley rat hematologic parameters after storage of samples at 3 C and 21 C. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 51(5), pp.616-621.
- Cosnes, J., Nion-Larmurier, I., Beaugerie, L., Afchain, P., Tiret, E. and Gendre, J.P., 2005. Impact of the increasing use of immunosuppressants in Crohn's disease on the need for intestinal surgery. *Gut*, 54(2), pp.237-241.

- Damte, D., Reza, M.A., Lee, S.J., Jo, W.S. and Park, S.C., 2011. Anti-inflammatory activity of dichloromethane extract of *Auricularia auricula-judae* in RAW264. 7 cells. *Toxicological research*, 27(1), pp.11-14.
- Davidson, A. and Diamond, B., 2001. Autoimmune diseases. *New England Journal of Medicine*, 345(5), pp.340-350.
- Davis, M.M., Altman, J.D. and Newell, E.W., 2011. Interrogating the repertoire: broadening the scope of peptide–MHC multimer analysis. *Nature Reviews Immunology*, 11(8), pp.551-558.
- De-Eknamkul, W. and Potduang, B., 2003. Biosynthesis of β -sitosterol and stigmasterol in *Croton sublyratus* proceeds via a mixed origin of isoprene units. *Phytochemistry*, 62(3), pp.389-398.
- Dubey, J.P., Miller, N.L. and Frenkel, J.K., 1970. Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. *The Journal of parasitology*, pp.447-456.
- Düğenci, S.K., Arda, N. and Candan, A., 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of ethnopharmacology*, 88(1), pp.99-106.
- Effendi, N. and Widiastuti, H., 2014. Identifikasi Aktivitas Imunoglobulin M (Ig. M) Ekstrak Etanolik Daun Ceplukan (*Physalis Minima* Linn.) Pada Mencit. *Jurnal Kesehatan*, 7(2).
- Fahrimal, Y., Eliawardani, E., Rafina, A., Azhar, A. and Asmilia, N., 2014. Profil Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi* dan Diberikan Ekstrak Kulit Batang Jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb). *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 8(2).
- Farmer, J.D., Packard, N.H. and Perelson, A.S., 1986. The immune system, adaptation, and machine learning. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, 22(1-3), pp.187-204.

- Fausto, N., Laird, A.D., and Webber, E.M., 1995. Role of growth factors and cytokines in hepatic regeneration. *The FASEB Journal*, 9(15), pp.1527-1536.
- Ferrer, A., Altabella, T., Arró, M. and Boronat, A., 2017. Emerging roles for conjugated sterols in plants. *Progress in lipid research*, 67, pp.27-37.
- Ferrian, S., 2013. *Immune response on rabbit does of different genetic types subjected to reproductive, environment and immunologic challenges* (Doctoral dissertation, Universidad CEU-Cardenal Herrera).
- Fehr, W.R. and Caviness, C.E., 1977. Stages of soybean development.
- Fitria, L., Illiy, L.L. and Dewi, I.R., 2017. Pengaruh antikoagulan dan waktu penyimpanan terhadap profil hematologis tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) galur wistar. *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal*, 33(1), pp.22-30.
- Flaño, E., Woodland, D.L. and Blackman, M.A., 2002. A mouse model for infectious mononucleosis. *Immunologic research*, 25(3), pp.201-217.
- Folkers, K., Morita, M. and McRee, J., 1993. The activities of coenzyme Q10 and vitamin B6 for immune responses. *Biochemical and biophysical research communications*, 193(1), pp.88-92.
- Fransson, M., Piras, E., Burman, J., Nilsson, B., Essand, M., Lu, B., Harris, R.A., Magnusson, P.U., Brittebo, E. and Loskog, A.S., 2012. CAR/FoxP3-engineered T regulatory cells target the CNS and suppress EAE upon intranasal delivery. *Journal of neuroinflammation*, 9(1), pp.1-12.
- Fujiyoshi, M. and Ozaki, M., 2011. Molecular mechanisms of liver regeneration and protection for treatment of liver dysfunction and diseases. *Journal of hepatobiliary-pancreatic sciences*, 18(1), pp.13-22.

- Gabhe, S.Y., Tatke, P.A. and Khan, T.A., 2006. Evaluation of the immunomodulatory activity of the methanol extract of *Ficus benghalensis* roots in rats. *Indian journal of pharmacology*, 38(4), p.271.
- Gallucci, S., Lolkema, M. and Matzinger, P., 1999. Natural adjuvants: endogenous activators of dendritic cells. *Nature medicine*, 5(11), pp.1249-1255.
- Galun, E. and Axelrod, J.H., 2002. The role of cytokines in liver failure and regeneration: potential new molecular therapies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1592(3), pp.345-358.
- Gavin, A.L., Hoebe, K., Duong, B., Ota, T., Martin, C., Beutler, B. and Nemazee, D., 2006. Adjuvant-enhanced antibody responses in the absence of toll-like receptor signaling. *Science*, 314(5807), pp.1936-1938.
- González-Santoyo, I. and Córdoba-Aguilar, A., 2012. Phenoloxidase: a key component of the insect immune system. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 142(1), pp.1-16.
- Gordon, S., 2016. Phagocytosis: an immunobiologic process. *Immunity*, 44(3), pp.463-475.
- Gordon dan Austyn. 2012. Exploring Immunology – Concepts and Evidence. *Eur. J. Immunol.* 42: 3097-3100.
- Gregory, S.G., Sekhon, M., Schein, J., Zhao, S., Osoegawa, K., Scott, C.E., Evans, R.S., Burridge, P.W., Cox, T.V., Fox, C.A. and Hutton, R.D., 2002. A physical map of the mouse genome. *Nature*, 418(6899), pp.743-750.
- Haile, F.J., Higley, L.G., Specht, J.E. and Spomer, S.M., 1998. Soybean leaf morphology and defoliation tolerance. *Agronomy Journal*, 90(3), pp.353-362.

- Haliza, W., Purwani, E.Y. and Thahir, R., 2016. Pemanfaatan kacang-kacangan lokal sebagai substitusi bahan baku tempe dan tahu. *Buletin Teknologi Pasca Panen*, 3(1), pp.1-8.
- Hasanah, A., 2015. Efek Jus Bawang Bombay (*Allium cepa* Linn.) Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit Yang Diinduksi Streptozotocin (STZ). *Saintika Medika*, 11(2), pp.92-101.
- Haynes, B.F., Markert, M.L., Sempowski, G.D., Patel, D.D. and Hale, L.P., 2000. The role of the thymus in immune reconstitution in aging, bone marrow transplantation, and HIV-1 infection. *Annual review of immunology*, 18(1), pp.529-560.
- Iswara, P., 2010. Kedelai Setelah Satu Dekade. *Majalah Tempo*. <http://majalah.tempointeraktif.com/id/arsip/2010/03/29/EB/mbm.20100329.EB133122.id.html>. Diakses tanggal 31 Juli 2021, pukul 21.26 WIB.
- Júnior, D.S.T., de Oliveira, C.M. and de Assis, E.M., 2019. Population-based study of 24 autoimmune diseases carried out in a Brazilian Microregion. *Journal of epidemiology and global health*, 9(4), p.243.
- Kalma, R., 2018. Analisis Titer Immunoglobulin M (IgM) Pada Darah Mencit Dengan Pemberian Sari Buah Kurma.
- Kametani, T. and Furuyama, H., 1987. Synthesis of vitamin D3 and related compounds. *Medicinal research reviews*, 7(2), pp.147-171.
- Kaur, N., Chaudhary, J., Jain, A. and Kishore, L., 2011. Stigmasterol: a comprehensive review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(9), p.2259.
- Kawakami, Y., Ito, M., Hirayama, M., Sahashi, K., Ohkawara, B., Masuda, A., Nishida, H., Mabuchi, N., Engel, A.G. and Ohno, K., 2011. Anti-MuSK

- autoantibodies block binding of collagen Q to MuSK. *Neurology*, 77(20), pp.1819-1826.
- Khasanah, N., 2009. *Pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam (Nigella sativa) terhadap respon proliferasi limfosit limpa mencit balb/c yang diinfeksi salmonella typhimurium* (Doctoral dissertation, Medical Faculty).
- Kim, J.A., Jung, W.S., Chun, S.C., Yu, C.Y., Ma, K.H., Gwag, J.G. and Chung, I.M., 2006. A correlation between the level of phenolic compounds and the antioxidant capacity in cooked-with-rice and vegetable soybean (*Glycine max* L.) varieties. *European Food Research and Technology*, 224(2), pp.259-270.
- Kokate, C.K., Purohit, A.P. and Gokhale, S.B., 2005. *Pharmacognosy*, Nirali Prakashan, Pune.
- Kovacsovics-Bankowski, M. and Rock, K.L., 1995. A phagosome-to-cytosol pathway for exogenous antigens presented on MHC class I molecules. *Science*, 267(5195), pp.243-246.
- Krisnawati, A., 2017. Kedelai sebagai sumber pangan fungsional soybean as source of functional food. *Iptek Tanaman Pangan*, 12(1), pp.57-65.
- Kusmardi, S.K. and Enif, E.T., 2007. Efek Imunomodulator Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata*. L) Terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Makrofag. *Makara Kesehatan*, 11(2), pp.50-53.
- Ladics, G.S., 2007. Use of SRBC antibody responses for immunotoxicity testing. *Methods*, 41(1), pp.9-19.
- Lanzavecchia, A., 1985. Antigen-specific interaction between T and B cells. *Nature*, 314(6011), pp.537-539.
- Law, M., 2000. Plant sterol and stanol margarines and health. *Bmj*, 320(7238), pp.861-864.

- Le, C.F., Kailaivasan, T.H., Chow, S.C., Abdullah, Z., Ling, S.K. and Fang, C.M., 2017. Phytosterols isolated from *Clinacanthus nutans* induce immunosuppressive activity in murine cells. *International immunopharmacology*, 44, pp.203-210.
- Limaye, V., Bundell, C., Hollingsworth, P., Rojana-Udomsart, A., Mastaglia, F., Blumbergs, P. and Lester, S., 2015. Clinical and genetic associations of autoantibodies to 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme a reductase in patients with immune-mediated myositis and necrotizing myopathy. *Muscle & nerve*, 52(2), pp.196-203.
- Lis, M., Szczyпка, M., Suszko, A., Switala, M. and Obminska-Mrukowicz, B., 2011. The effect of florfenicol on lymphocyte subsets and humoral immune response in mice. *Polish journal of veterinary sciences*, 14(2).
- Liu, K., 1997. Chemistry and nutritional value of soybean components. In *Soybeans* (pp. 25-113). Springer, Boston, MA.
- Liu, K., 2012. *Soybeans: chemistry, technology, and utilization*. Springer
- Makinodan, T. and Kay, M.M., 1980. Age influence on the immune system. *Advances in immunology*, 29, pp.287-330.
- Manshuri, A.G., 2011. Laju Pertumbuhan Vegetatif dan Generatif Genotipe Kedelai Berumur Genja.
- Mazmanian, S.K., Liu, C.H., Tzianabos, A.O. and Kasper, D.L., 2005. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*, 122(1), pp.107-118.
- McInnes, I.B. and Schett, G., 2011. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *New England Journal of Medicine*, 365(23), pp.2205-2219.
- Medzhitov, R., 2007. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature*, 449(7164), pp.819-826.

- Mitsui, A. and Suzuki, S., 1969. Immunosuppressive effect of mycophenolic acid. *The Journal of antibiotics*, 22(8), pp.358-363.
- Mulyadi, A., 2012. Pengaruh pemberian legin, pupuk NPK (15: 15: 15) dan urea pada tanah gambut terhadap kandungan N, P total pucuk dan bintil akar kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.). *Jurnal Kaunia*, 8(1), pp.21-29.
- Munasir, Z., 2016. Respons imun terhadap infeksi bakteri. *Sari Pediatri*, 2(4), pp.193-7.
- NIH (National Institutes of Health), 2005. Autoimmune diseases coordinating committee: Autoimmune diseases research plan. *National Institutes of Health*.
- NIH (National Institutes of Health), 2020. Antibody. National Human Genome Research Institute. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Antibody>. Diakses pada Sabtu, 31 Juli 2021, pukul 23.27 WIB.
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2021. PubChem Compound Summary for CID 5280794, Stigmasterol. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Stigmasterol>. Diakses pada Sabtu, 13 Februari 2021, pukul 17.31 WIB.
- Nyam, K.L., Tan, C.P., Lai, O.M., Long, K. and Man, Y.C., 2010. Optimization of supercritical fluid extraction of phytosterol from roselle seeds with a central composite design model. *Food and Bioproducts Processing*, 88(2-3), pp.239-246.
- Orozco-Solano, M., Ruiz-Jiménez, J. and De Castro, M.L., 2010. Ultrasound-assisted extraction and derivatization of sterols and fatty alcohols from olive leaves and drupes prior to determination by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, 1217(8), pp.1227-1235.

- Ostlund Jr, R.E., 2002. Phytosterols in human nutrition. *Annual review of nutrition*, 22(1), pp.533-549.
- Oyouni, A.A.A., Saggu, S., Tousson, E. and Rehman, H., 2018. Immunosuppressant drug tacrolimus induced mitochondrial nephrotoxicity, modified PCNA and Bcl-2 expression attenuated by *Ocimum basilicum* L. in CD1 mice. *Toxicology reports*, 5, pp.687-694.
- Ozawa, Y., Sato, H., Nakatani, A., Mori, O., Hara, Y., Nakada, Y., Akiyama, Y. and Morinaga, Y., 2001. Chemical composition of soybean oil extracted from hypocotyle-enriched soybean raw material and its cholesterol lowering effects in rats. *Journal of oleo science*, 50(4), pp.217-223.
- Palaksha, K.J., Shin, G.W., Kim, Y.R. and Jung, T.S., 2008. Evaluation of non-specific immune components from the skin mucus of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish & shellfish immunology*, 24(4), pp.479-488.
- Pangan, E., 2006. Karakteristik Kedelai Sebagai Bahan Pangan Fungsional. Online Tersedia: <http://tekpan.unimus.ac.id> (diakses tanggal 12 Februari 2021).
- Péres, V.F., Saffi, J., Melecchi, M.I.S., Abad, F.C., de Assis Jacques, R., Martinez, M.M., Oliveira, E.C. and Caramão, E.B., 2006. Comparison of soxhlet, ultrasound-assisted and pressurized liquid extraction of terpenes, fatty acids and Vitamin E from *Piper gaudichaudianum* Kunth. *Journal of chromatography A*, 1105(1-2), pp.115-118.
- Plotnikov, E.Y., Chupyrkina, A.A., Jankauskas, S.S., Pevzner, I.B., Silachev, D.N., Skulachev, V.P. and Zorov, D.B., 2011. Mechanisms of nephroprotective effect of mitochondria-targeted antioxidants under rhabdomyolysis and ischemia/reperfusion. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1812(1), pp.77-86.

- Puri, A., Saxena, R., Saxena, R.P., Saxena, K.C., Srivastava, V. and Tandon, J.S., 1993. Immunostimulant agents from *Andrographis paniculata*. *Journal of Natural products*, 56(7), pp.995-999.
- Septianto, R.D., Ardana, I.B., Sudira, I.W. and Dharmayudha, A.A.G.O., 2015. Profil Hematologi Mencit Pasca Pemberian Jamu Temulawak Secara Oral. *Buletin Veteriner Udayana*, 7(1), pp.34-40.
- Ramasamy, A., Jothivel, N., Das, S., Swapna, A., Albert, A.P., Barnwal, P. and Babu, D., 2018. Evaluation of the protective role of glycine max seed extract (soybean oil) in drug-induced nephrotoxicity in experimental rats. *Journal of dietary supplements*, 15(5), pp.583-595.
- Reid, M.E., Lomas-Francis, C. and Olsson, M.L., 2012. *The blood group antigen factsbook*. Academic press.
- Rejeki, P.S., Putri, E.A.C. and Prasetya, R.E., 2019. Ovariektomi pada Tikus dan Mencit.
- Rifa'i, M., Shi, Z., Zhang, S. Y., Lee, Y. H., Shiku, H., Isobe, K., & Suzuki, H. 2008. CD8+CD122+ regulatory T cells recognize activated T cells via conventional MHC class I-alpha-betaTCR interaction and become IL-10-producing active regulatory cells. *International immunology*.
- Romi, F., Skeie, G.O., Gilhus, N.E. and Aarli, J.A., 2005. Striational antibodies in myasthenia gravis: reactivity and possible clinical significance. *Archives of Neurology*, 62(3), pp.442-446.
- Rose, N.R. and Bona, C., 1993. Defining criteria for autoimmune diseases (Witebsky's postulates revisited). *Immunology today*, 14(9), pp.426-430.

- Roosita, K., 2020. Pemberian Minuman dan Cookies Galohgor Terhadap Jumlah Blood Urea Nitrogen (Bun) dan Kreatinin Plasma Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *JURNAL GIZI DAN KESEHATAN*, 12(1), pp.1-10.
- Rubenstein, D., Yin, W. and Frame, M.D., 2015. *Biofluid mechanics: an introduction to fluid mechanics, macrocirculation, and microcirculation*. Academic Press.
- Santosa, C.M. and Hertiani, T., 2005. Kandungan senyawa kimia dan efek ekstrak air Daun Bangunbangun (*Coleus amboinicus*, L.) pada aktivitas fagositosis netrofil tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Majalah Farmasi Indonesia*, 16(3), pp.141-148.
- Secombes, C.J., 1996. The nonspecific immune system: cellular defenses. *The fish immune system: organism, pathogen and environment*, 15, pp.63-103.
- Setiati, S., 2014. Geriatric medicine, sarkopenia, frailty, dan kualitas hidup pasien usia lanjut: tantangan masa depan pendidikan, penelitian dan pelayanan kedokteran di Indonesia. *eJournal Kedokteran Indonesia*.
- Setiawan, D., Putri, R.N. and Suryanita, R., 2019. Perbandingan Algoritma Genetika dan Backpropagation pada Aplikasi Prediksi Penyakit Autoimun. *Khazanah Informatika: Jurnal Ilmu Komputer dan Informatika*, 5(1), pp.21-27.
- Sharmila, R., Sindhu, G. and Arockianathan, P.M., 2016. Nephroprotective effect of β -sitosterol on N-diethylnitrosamine initiated and ferric nitrilotriacetate promoted acute nephrotoxicity in Wistar rats. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 27(5), pp.473-482.
- Shiina, T., Inoko, H. and Kulski, J.K., 2004. An update of the HLA genomic region, locus information and disease associations: 2004. *Tissue antigens*, 64(6), pp.631-649.

- Simon, A.K., Hollander, G.A. and McMichael, A., 2015. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1821), p.20143085.
- Slavin, M. and Yu, L.L., 2012. A single extraction and HPLC procedure for simultaneous analysis of phytosterols, tocopherols and lutein in soybeans. *Food Chemistry*, 135(4), pp.2789-2795.
- Sodimbaku, V., Pujari, L., Mullangi, R. and Marri, S., 2016. Carrot (*Daucus carota* L.): Nephroprotective against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Indian journal of pharmacology*, 48(2), p.122.
- Stills, H.F., 2012. Polyclonal antibody production. In *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents* (pp. 259-274). Academic Press.
- Stojanovich, L. and Marisavljevich, D., 2008. Stress as a trigger of autoimmune disease. *Autoimmunity reviews*, 7(3), pp.209-213.
- Stone, L.R., Teare, I.D., Nickell, C.D. and Mayaki, W.C., 1976. Soybean Root Development and Soil Water Depletion 1. *Agronomy Journal*, 68(4), pp.677-680.
- Suardana, I.B.K., Dewi, N.M.R.K. and Mahardika, I.G.N.K., 2009. Respon Imun Itik Bali terhadap Berbagai Dosis Vaksin Avian Influenza H5N1. *Jurnal Veteriner*, 10(3), pp.150-155.
- Sudhakaran, D.S., Srirekha, P., Devasree, L.D., Prem Singh, S. and Michael, R.D., 2006. Immunostimulatory effect of *Tinospora cordifolia* Miers leaf extract in *Oreochromis mossambicus*.
- Suhrman, S. and Winarti, C., 2010. Prospek dan fungsi tanaman obat sebagai imunomodulator. *Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. hal*, pp.121-131.

- Sun, H.X., Qin, F. and Pan, Y.J., 2005. In vitro and in vivo immunosuppressive activity of Spica Prunellae ethanol extract on the immune responses in mice. *Journal of ethnopharmacology*, 101(1-3), pp.31-36.
- Sundararaman, P. and Djerassi, C., 1977. A convenient synthesis of progesterone from stigmasterol. *The Journal of organic chemistry*, 42(22), pp.3633-3634.
- Sompayrac, L.M., 2019. *How the immune system works*. John Wiley & Sons.
- Swedo, S.E., Leonard, H.L., Garvey, M., Mittleman, B., Allen, A.J., Perlmutter, S., Dow, S., Zamkoff, J., Dubbert, B.K. and Lougee, L., 1998. Pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infections: clinical description of the first 50 cases. *American Journal of Psychiatry*, 155(2), pp.264-271.
- Tan, E.M., Cohen, A.S., Fries, J.F., Masi, A.T., Mcshane, D.J., Rothfield, N.F., Schaller, J.G., Talal, N. and Winchester, R.J., 1982. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 25(11), pp.1271-1277.
- Targarona, E.M., Espert, J.J., Balagué, C., Piulachs, J., Artigas, V. and Trias, M., 1998. Splenomegaly should not be considered a contraindication for laparoscopic splenectomy. *Annals of surgery*, 228(1), p.35.
- Thomson, A.W. and Knolle, P.A., 2010. Antigen-presenting cell function in the tolerogenic liver environment. *Nature Reviews Immunology*, 10(11), pp.753-766.
- Utami, Y.P. and Aliyah, R.S., 2016. Uji Efek Immunostimulan Kombinasi Ekstrak Mahkota Bunga Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.) dan ekstrak Umbi Bawang Dayak pada Mencit (*Mus musculus*). *JST Kesehatan*, 6(2), pp.179-184.
- Verschuuren, J.J., Huijbers, M.G., Plomp, J.J., Niks, E.H., Molenaar, P.C., Martinez-Martinez, P., Gomez, A.M., De Baets, M.H. and Losen, M., 2013. Pathophysiology

- of myasthenia gravis with antibodies to the acetylcholine receptor, muscle-specific kinase and low-density lipoprotein receptor-related protein 4. *Autoimmunity reviews*, 12(9), pp.918-923.
- Vorster, B.J., Schlüter, U., Du Plessis, M., Van Wyk, S., Makgopa, M.E., Ncube, I., Quain, M.D., Kunert, K. and Foyer, C.H., 2013. The cysteine protease–cysteine protease inhibitor system explored in soybean nodule development. *Agronomy*, 3(3), pp.550-570.
- Waluyo, S., 2014. *Penyakit-Penyakit Autoimun*. Elex Media Komputindo.
- Wang, Y., Huang, G., Wang, J., Molina, H., Chaplin, D.D. and Fu, Y.X., 2000. Antigen persistence is required for somatic mutation and affinity maturation of immunoglobulin. *European journal of immunology*, 30(8), pp.2226-2234.
- Whitacre, C.C., 2001. Sex differences in autoimmune disease. *Nature immunology*, 2(9), pp.777-780.
- Yavuz, H., Karakoç, V., Türkmen, D., Say, R. and Denizli, A., 2007. Synthesis of cholesterol imprinted polymeric particles. *International journal of biological macromolecules*, 41(1), pp.8-15.
- Yuan, L., Zhang, F., Shen, M., Jia, S. and Xie, J., 2019. Phytosterols suppress phagocytosis and inhibit inflammatory mediators via ERK pathway on LPS-triggered inflammatory responses in RAW264. 7 macrophages and the correlation with their structure. *Foods*, 8(11), p.582.
- Zahnia, S. and Sumekar, D.W., 2016. Kajian epidemiologis skizofrenia. *Jurnal Majority*, 5(4), pp.160-166.
- Zampieron, E.R. and Kamhi, E.J., 2012. Natural support for autoimmune and inflammatory disease. *Journal of Restorative Medicine*, 1(1), pp.38-47.

Zhang, M.S., Sandouk, A. and Houtman, J.C., 2016. Glycerol Monolaurate (GML) inhibits human T cell signaling and function by disrupting lipid dynamics. *Scientific reports*, 6(1), pp.1-13.

©UKDOW