

**AKTIVITAS IMMUNOMODULATOR EKSTRAK ETANOL DAUN BABADOTAN
[AGERATUM CONYZOIDES (L.)]
TERHADAP MENCIT JANTAN GALUR SWISS WEBSTER**

Hendy Suhendy^{1*}, Yedy Purwandi Sukmawan²

¹Departemen Farmakognosi, Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya – 46115, Jawa Barat, Indonesia.

²Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya – 46115, Jawa Barat, Indonesia.

Email: radhwa04@gmail.com

Received: 09 March 2019; Revised: March 2019; Accepted: April 2019; Available online: May 2019

ABSTRACT

Hypersensitivity reactions such as anaphylaxis are increase over time. Anaphylaxis generally affects the skin, breathing, cardiovascular and digestive systems. Ageratum conyzoides L. are often used by the people to heal skin diseases, wounds and allergies. The objectives of this study is to determine the immunomodulatory activity of the ethanolic extract of babadotan leaves (ageratum conyzoides L) on male mice using the active cutaneous anaphylactic reaction method. The method is an experimental study of 4 groups each consisting of 4 male swiss webster strain mice. The first step is the process of sensitization of each group for 2 cycles (7 days per cycle). There is not treatment for Group 1 as a normal group, but Group 2 as a negative group, Group 3 as group I test and Group 4 as group II test each are given by ovalbumin (5 ml / kg BW) intraperitoneally. The second stage is challenging on a day before the experiment by shaving the back areas of the mice as the injection areas. Inject intracutaneously in each sector with 0.1 mL of 10% egg white solution (a red bump will form). Fifteen minutes after the formation of the bump, give the ethanolic extract of the babadotan leaf (100 mg / Kg BW) to the test group I and the test group II (250 mg / Kg BW). Observe and measure these sectors every 15 minutes for 60 minutes, then continue observations every day for 7 days. Observations include the first time the appearance of bump, diameter of bump after 60 minutes and until the time of bump disappearance. The results showed that the ethanol extract of babadotan leaves test group II (250 mg / kg BW) had the best antianaphylactic activity with the possibility mechanism through inhibition on histamine.

Keywords: Leaves, *Ageratum conyzoides L.*, Immunomodulatory, active cutaneous anaphylaxis

ABSTRAK

Reaksi hipersensitivitas menunjukkan peningkatan, salah satunya reaksi anafilaksis. Anafilaksis umumnya berdampak pada kulit, pernafasan, kardiovaskular dan sistem pencernaan. Tanaman babadotan dalam beberapa literatur disebutkan sering digunakan masyarakat untuk menangani penyakit kulit, luka dan alergi. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas immunomodulator ekstrak etanol daun babadotan (*ageratum conyzoides L*) terhadap mencit jantan menggunakan metode reaksi anafilaksis kutan aktif. Metode penelitian bersifat eksperimen menggunakan digunakan hewan percobaan mencit jantan galur swiss webster dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing terdiri dari 4 mencit. Pada tahap awal dilakukan sensitisasi terlebih dahulu pada tiap kelompok, tahap sensitisasi dilakukan selama 2 siklus (per 7 hari per siklus). Kelompok 1 sebagai kelompok normal tidak diberikan perlakuan apapun, Kelompok 2 sebagai kelompok negatif dilakukan sensitisasi menggunakan ovalbumin (5ml/kg BB) secara intraperitoneal, Kelompok 3 sebagai kelompok uji I dilakukan sensitisasi menggunakan ovalbumin (5ml/kg BB) secara intraperitoneal. Kelompok 4 sebagai kelompok uji II dilakukan sensitisasi menggunakan ovalbumin (5ml/kg BB) secara intraperitoneal. Setelah tahap sensitisasi pada masing-masing kelompok kecuali kelompok normal dilanjutkan pada tahap kedua yaitu challenging (penantangan). Sehari sebelum percobaan (sehari sebelum periode sensitisasi berakhir) bagian punggung hewan dicukur bagi dalam beberapa sektor penyuntikan sesuai kebutuhan. Suntikan secara intrakutan pada tiap sektor larutan putih telur 10% sebanyak 0,1 ml (akan terbentuk kemerahan pada kulit atau bentol

merah). Lima belas menit setelah terbentuk bentol diberikan ekstrak etanol daun babadotan (100 mg/Kg BB) untuk kelompok uji I dan kelompok uji II (250 mg/Kg BB). Kemudian dilakukan pengamatan dan pengukuran terhadap sektor-sektor tersebut setiap 15 menit selama 60 menit, kemudian dilanjutkan pengamatan setiap hari selama 7 hari. Pengamatan meliputi waktu pertama timbulnya bentolan, diameter bentolan setelah waktu 60 menit dan sampai waktu menghilangnya bentolan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun babadotan dosis II (Ekstrak Etanol *A.conyzoides* 250mg/kg BB) terbukti memiliki aktivitas antianafilaksis terbaik dengan kemungkinan mekanisme kerja melalui hambatan pada histamin.

Kata kunci: daun, babadotan, immunomodulator, anafilaksis kutan aktif.

PENDAHULUAN

Kecenderungan dunia terhadap reaksi hipersensitivitas menunjukkan peningkatan (Björkstén et al, 2008). Salah satu contoh reaksi yang terkait hipersensitivitas adalah reaksi anafilaksis. Anafilaksis adalah reaksi akut, berpotensi fatal, serta reaksi yang melibatkan multiorgan yang diakibatkan oleh pengeluaran mediator-mediator kimia dari sel mast dan basofil (Kemp et al, 2002; Shahzad, 2016).

Penanganan reaksi anafilaksis ini terbatas penggunaan-penggunaan zat-zat seperti antihistamin H-1, antihistamin H-2, kortikosteroid, simpatomimetik (epinefrin), inotropik positif (glucagon) dan vasopressor (dopamin) (Shahzad, 2016). Sedangkan untuk penanganan reaksi hipersensitivitas menggunakan bahan yang berasal dari alam relatif masih sedikit. Tanaman babadotan dalam beberapa literatur disebutkan sering digunakan masyarakat untuk menangani penyakit kulit, luka dan alergi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengukur Aktivitas immunomodulator ekstrak etanol daun babadotan (*ageratum conyzoides* L) terhadap mencit jantan menggunakan metode reaksi anafilaksis kutan aktif

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat suntik 1 ml dan 3 ml, alat bedah, timbangan hewan, meja bedah hewan, maserator, *magnetic stirrer*, *rotary vaporator*, *beaker glass*, timbangan analitik, pipet tetes, tabung reaksi, Erlenmeyer, gelas ukur, kaca arloji, krus porselen, cawan evaporasi, *water bath*, batang pengaduk, botol semprot, jarum ose, cawan petri, tabung reaksi, lampu Bunsen, *aluminium foil* dan *plastic wrap*.

Bahan

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.).

Bahan-bahan yang digunakan yaitu Putih Telur, Putih telur 10% dalam NaCl 0,9%, Larutan NaCl 0,9%, Alkohol 70%, Alkohol 96%, Carboxymethylcellulose, NH₄OH, CHCl₃, HCl, pereaksi Dragendorf dan Mayer, logam Mg, amil alkohol, gelatin, FeCl, KOH 5%, vanilin, H₂SO₄, asam asetat anhidrat, dan aqua pro injeksi

Penyiapan Bahan Tanaman

Bahan uji berupa daun babadotan diperoleh di pekarangan rumah Kecamatan Mangkubumi Kota Tasikmalaya.

Determinasi dilakukan di herbarium di herbarium Sekolah Ilmu Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung

Sebelum digunakan, bahan dicuci menggunakan air mengalir, kemudian dilakukan sortasi basah, lalu dikeringkan menggunakan oven pengering. Setelah bahan kering, dilakukan sortasi kering kemudian dibuat menjadi serbuk menggunakan blender .

Penyiapan Hewan percobaan

Hewan Percobaan yang digunakan adalah mencit jantan galur Swiss-Webster dengan bobot 180-200 gram. Tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 5 hari.

Pengujian karakteristik simplisia

Pengujian karakteristik simplisia meliputi Pemeriksaan karakteristik simplisia yang dilakukan meliputi, penapisan fitokimia simplisia, penetapan kadar air, penetapan kadar abu, penetapan kadar sari larut air dan penetapan kadar sari larut etanol.

Pembuatan Ekstrak

Daun kering yang telah di serbukkan ditimbang 500 gram, kemudian masukkan pada alat ekstraksi dan dimasukkan alkohol 96% sampai merendam serbuk dan dilakukan tiga kali pengulangan pemberian alkohol 96% .Kemudian Ekstrak cair tersebut di evaporasi menggunakan evaporator pada suhu 60°C sampai didapat ekstrak kentalnya. Ekstrak kental disimpan pada suhu 40°C.

Penapisan fitokimia ekstrak

Penapisan fitokimia sampel untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam rimpang gandasuli meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid/terpenoid, kuinon dan monoterpen/seskuiterpen.

Uji Aktivitas Immunomodulator

Mencit jantan galur swiss webster dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing terdiri dari 4 mencit. Pada tahap awal dilakukan sensitisasi terlebih dahulu pada tiap kelompok, tahap sensitisasi dilakukan selama 2 siklus (per 7 hari per siklus). Kelompok 1 sebagai kelompok normal tidak diberikan perlakuan apapun, Kelompok 2 sebagai kelompok negatif dilakukan sensitisasi menggunakan ovalbumin (5ml/kg BB) secara intraperitoneal, Kelompok 3 sebagai kelompok uji I dilakukan sensitisasi menggunakan ovalbumin (5ml/kg BB) secara intraperitoneal. Kelompok 4 sebagai kelompok uji II dilakukan sensitisasi menggunakan ovalbumin (5ml/kg BB) secara intraperitoneal. Setelah tahap sensitisasi pada masing-masing kelompok kecuali kelompok normal dilanjutkan pada tahap kedua yaitu challenging (penantangan). Sehari sebelum percobaan (sehari sebelum periode sensitisasi berakhir) bagian punggung hewan dicukur bagi dalam beberapa sektor penyuntikan sesuai kebutuhan. Suntikan secara intrakutan pada tiap sektor larutan putih telur 10% sebanyak 0,1 ml (akan terbentuk kemerahan pada kulit atau bentol merah). Lima belas menit setelah terbentuk bentol diberikan ekstrak etanol daun babadotan (50 mg/Kg BB) untuk kelompok uji I dan diberikan ekstrak etanol daun babadotan (100 mg/Kg BB) untuk kelompok uji II. Kemudian dilakukan pengamatan dan pengukuran terhadap sektor-sektor tersebut setiap 15 menit selama 60 menit, kemudian dilanjutkan pengamatan setiap hari selama 7 hari. Pengamatan meliputi waktu pertama timbulnya bentolan, diameter bentolan setelah waktu 60 menit dan sampai waktu menghilangnya bentolan.

Analisis Statistika

Hasil yang diperoleh disajikan dalam bentuk rataan \pm SE. Hasil secara statistika beda antara masing-masing kelompok dihitung menggunakan metode ANOVA dan diteruskan dengan LSD menggunakan program SPSS 16.0..

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi tanaman yang dilakukan menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan benar adalah babadotan (*Ageratum conyzoides* L.).

Karakterisasi simplisia dilakukan untuk mengetahui karakter simplisia yang digunakan serta untuk mengetahui telah masuk tidaknya pada persyaratan yang direkomendasikan Pengujian karakteristik simplisia daun babadotan terlihat pada Tabel 1 dimana menunjukkan hasil yang cukup baik dengan parameter yang paling penting yaitu kadar air ekstrak tidak melebihi 10% sesuai persyaratan yang ditetapkan (Depkes, 2008). Kadar air yang tinggi (>10%) dapat mengakibatkan penurunan kualitas dan mencetuskan pertumbuhan fungi atau bakteri. Sedangkan dalam penentuan kadar abu total untuk mengetahui adanya kandungan unsur mineral atau pengotor seperti silika atau pasir (Andhika et al, 2017). Selain itu diketahui bahwa ekstrak *Ageratum conyzoides* L lebih terlarut dalam air dibandingkan dalam etanol.

Tabel 1. Hasil karakterisasi simplisia

Parameter	Hasil ± SD (%b/b)
Kadar Air*	9,00 ± 4,24
Kadar Abu Total	1,75 ± 1,56
Kadar Abu Tidak Larut Asam	4,09 ± 1,15
Kadar Sari Air	5,83 ± 0,45
Kadar Sari Larut Etanol	2,33 ± 0,57

*) % v/b

Proses ekstraksi yang dilakukan terhadap simplisia daun babadotan dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi. Pelarut etanol 96% digunakan dikarenakan etanol dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa aktif (pelarut universal) yang diduga memberikan aktivitas immunomodulator. Filtrat hasil ekstraksi yang diperoleh, dipekatkan dengan *rotary vaporator* hingga didapatkan ekstrak kental. Rendemen yang diperoleh yaitu sebesar 26,99% dan selanjutnya diapakai untuk uji lanjutan terhadap ekstrak.

Skrining fitokimia yang dilakukan terlihat pada Tabel 2 dimana senyawa-senyawa golongan metabolit sekunder dengan hasil positif diduga memberikan kontribusi terhadap aktivitas immunomodulator ekstrak etanol daun babadotan

Tabel 2. Penapisan Fitokimia Ekstrak etanol daun babadotan

Kandungan Kimia	Ekstrak Etanol Daun Babadotan
Alkaloid	-
Saponin	-
Seskuiterpen/monoterpen	-
Tanin	+
Polifenol	+
Steroid/triterpenoid	+
Kuinon	+
Flavonoid	+

Keterangan:

(+) : mengandung senyawa yang diuji

(-) : tidak mengandung senyawa yang diuji

.Pengujian aktivitas immunomodulator ekstrak etanol daun babadotan diamati terhadap waktu pertama timbulnya bentolan, diameter bentolan setelah waktu 60 menit dan sampai waktu menghilangnya bentolan.

Parameter waktu pertama timbulnya bentolan biru, dosis II yang terlihat pada Tabel 3 menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Sedangkan pada kelompok positif dan uji dosis I tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kelompok negatif. Akan tetapi meskipun menunjukkan tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) kelompok positif dan kelompok dosis uji I dapat meningkatkan waktu pertama timbulnya bentolan biru secara berturut-turut sebesar 180% dan 163%.

Tabel 3 Hasil Waktu Timbulnya Bentolan Biru

Kelompok	Waktu (detik)
Kontrol positif (cetirizine 0,026/20 g BB mencit)	219,00 ± 91,83
Kontrol negatif (CMC 1%)	78,20 ± 56,92
Uji Dosis I (Ekstrak Etanol <i>A.conyzoides</i> 100mg/kg BB)	205,20 ± 70,92
Uji Dosis II (Ekstrak Etanol <i>A.conyzoides</i> 250mg/kg BB)	377,80 ± 123,15*

* Menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok negatif

Parameter bentolan setelah 60 menit seperti yang terlihat pada Tabel 4 menunjukkan bahwa kelompok kontrol, dosis uji I dan dosis uji II tidak memberikan perbedaan bermakna dalam penurunan diameter setelah 60 menit ($p > 0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Meskipun ketiga kelompok tersebut menunjukkan hasil yang tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$), akan tetapi ketiga kelompok tersebut dapat menurunkan diameter bentolan setelah 60 menit secara berturut-turut sebesar 6,2%, 6,2% dan 10,4%.

Tabel 4 Hasil Pengukuran Diameter Bentolan Biru Setelah 60 Menit

Kelompok	Diameter (mm)
Kontrol positif (cetirizine 0,026/20 g BB mencit)	9,38 ± 1,37
Kontrol negatif (CMC 1%)	10,00 ± 1,55
Uji Dosis I (Ekstrak Etanol <i>A.conyzoides</i> 100mg/kg BB)	9,38 ± 1,42
Uji Dosis II (Ekstrak Etanol <i>A.conyzoides</i> 250mg/kg BB)	8,96 ± 0,75

* Menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok negatif

Parameter waktu hilangnya bentolan biru seperti yang terlihat pada Tabel 5 menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif, uji dosis I dan uji dosis II tidak memberikan perbedaan bermakna mengenai waktu hilangnya bentolan biru ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Meskipun tidak memberikan perbedaan bermakna ($p > 0,05$), ketiga kelompok tersebut menunjukkan penurunan waktu hilangnya bentolan biru secara berturut-turut sebesar 11,8%, 11,8% dan 17,6% dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Tabel 4 Hasil Pengukuran Diameter Bentolan Biru Setelah 60 Menit

Kelompok	Waktu Hilangnya bentolan (jam)
Kontrol positif (cetirizine 0,026/20 g BB mencit)	120,00 ± 24,00
Kontrol negatif (CMC 1%)	136,00 ± 27,71
Uji Dosis I (Ekstrak Etanol <i>A.conyzoides</i> 100mg/kg BB)	120,00 ± 41,57
Uji Dosis II (Ekstrak Etanol <i>A.conyzoides</i> 250mg/kg BB)	112,00 ± 36,66

* Menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok negatif

Pada hasil waktu timbul bentolan biru kelompok uji dosis II memberikan peningkatan waktu timbul bentolan biru secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok negatif, akan tetapi tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0,05$) bila dibandingkan kelompok positif. Aktivitas antianafilaksis yang ditunjukkan oleh ekstrak *Ageratum conyzoides* kemungkinan akibat antihistaminik-nya (Taur dan Patil, 2011), sejak pemerian uji dosis I dan uji dosis II diberikan 30 menit sebelum tahap penantangan (challenging), yang mana pada tahap penantangan terjadi pengeluaran histamin akibat antigen (ovalbumin) yang langsung berikatan dengan IgE yang telah terinduksi sebelumnya serta telah terikat dengan sel mast dan basofil. Akan tetapi histamin yang telah dikeluarkan tersebut di antagonisasi oleh zat yang berlaku sebagai antagonist H1 reseptor atau stabilisasi sel mast sehingga mengakibatkan peningkatan waktu timbul bentolan biru. Sedangkan bila aktivitas antianafilaksis yang terjadi diakibatkan aktivitas mekanisme seperti steroid, hal ini tidak memungkinkan untuk terjadi dengan waktu cepat, dikarenakan aktivitas dari steroid tersebut untuk berefek diperlukan waktu 4 jam atau berhari-hari untuk memberikan aktivitasnya (Adkinson et al, 2009). Hal ini didukung dengan data yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung pada *Ageratum conyzoides* yaitu quercetin dan kaempferol (Singh et al, 2013), terbukti dapat menghambat reseptor H1 dan menstabilkan sel mast melalui hambatan kalsium influks (Kempuraj et al, 2005; Park et al, 2008). Meskipun sebenarnya tidak menutup kemungkinan untuk melibatkan aktivitas melalui peranan steroid (glucocorticoid) dengan mengikat protein regulatori (NF-kappa beta) (Ring, 2005) oleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung seperti flavonoid, triterpenoid, steroid (Min et al, 2007; Shahzad, 2016; Torre et al, 2016).

Sedangkan, pada waktu sampai hilangnya bentolan tidak terdapat perbedaan bermakna pada kelompok positif, uji dosis I dan uji dosis II ($p > 0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok negatif. Hal ini mungkin diakibatkan oleh pemberian perlakuan kelompok kontrol positif maupun kelompok uji

yang hanya satu kali pemberian saja, sehingga tidak dapat terus mempertahankan ikatannya sebagai antagonis H1 pada reseptor H1 yang akhirnya mengakibatkan histamin yang disekresikan dapat kembali mengikat pada reseptor H1 yang sebelumnya diantagonisasi.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun babadotan dosis II (Ekstrak Etanol *A.conyzoides* 250mg/kg BB) terbukti memiliki aktivitas antianafilaksis terbaik dengan kemungkinan mekanisme kerja melalui hambatan pada histamin.

DAFTAR PUSTAKA

- Adkinson Jr NF, Bochner BS, Busse WW, Holgate ST, Lemanske Jr RF, Simons FER. Middleton's Allergy: Principles and Practice. 7th. PA: Mosby Elsevier; 2009.
- Andhika D, Oom K, Ella N. Formulasi Dan Uji Sediaan Masker Anti Jerawat Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni* (Nees & T. Nees)). Tersedia di perpustakaan.fmipa.unpak.ac.id/file/ejurnal%20066109044.docx (Diakses tanggal 25 juli 2017).
- Björkstén B, Clayton T, Ellwood P, Stewart A, Strachan D. Worldwide time trends for symptoms of rhinitis and conjunctivitis: Phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood. *Pediatr Allergy Immunol*. 2008. Mar;19(2):110-24.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia. 2008. Depkes RI.
- Dnyaneshwar J Taur1,* and Ravindra Y Patil. Some medicinal plants with antiasthmatic potential: a current status. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2011 Oct; 1(5): 413–418. doi: 10.1016/S2221-1691(11)60091-9
- J Ring. Allergy in Practice. 2005. Springer: Germany
- Johansson-Lindbom B, Borrebaeck CA. Germinal center B cells constitute a predominant physiological source of IL-4: implication for Th2 development in vivo. *J Immunol*. 2002 Apr 1. 168(7):3165-72.
- Kemp SF, Lockey RF. Anaphylaxis: a review of causes and mechanisms. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Sep. 110(3):341-8.
- Kempuraj D, Madhappan B, Christodoulou S, Boucher W, Cao J, Papadopoulou N, Cetrulo CL, Theoharides TC. Flavonols inhibit proinflammatory mediator release, intracellular calcium ion levels and protein kinase C theta phosphorylation in human mast cells. *Br J Pharmacol*. 2005 Aug; 145(7):934-44.
- Min, Y.D.; Choi, C.H.; Bark, H.; Son, H.Y.; Park, H.H.; Lee, S.; Park, J.W.; Park, E.K.; Shin, H.I.; Kim, S.H. Quercetin inhibits expression of inflammatory cytokines through attenuation of NF-kappaB and p38 MAPK in HMC-1 human mast cell line. *Inflamm. Res.*, v.56, n.5, p.210-215, 2007.
- Park HH, Lee S, Son HY, Park SB, Kim MS, Choi EJ, Singh TS, Ha JH, Lee MG, Kim JE, Hyun MC, Kwon TK, Kim YH, Kim SH. Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Arch Pharm Res*. 2008 Oct;31(10):1303-11. doi: 10.1007/s12272-001-2110-5
- S Shahzad. 2016. Anaphylaxis. Cited at September, 20, 2016 Available at <http://emedicine.medscape.com/article/135065-overview>.
- S. B Singh, W. R Devi, Marina A, W. I Devi, N. Swapana and C B. Singh. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Ageratum conyzoides* Linn (Asteraceae). 2013. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 7(8), pp. 371-385. DOI:10.5897/JMPR12.897.
- Simons FE. Anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Feb. 121(2 Suppl):S402-7; quiz S420
- Villa-de la Torre, R. Kinscherf, G. Bonaterra et al., "Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Critonia aromatisans* leaves: downregulation of pro-inflammatory cytokines," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 190, pp. 174–182, 2016.