

Optimasi Dosis dan Perbandingan Efek Ekstrak Etanol Ceplukan (*Physalis angulata*) dengan Obat Herbal Imunomodulator Terstandar terhadap Aktivitas Makrofag Intraperitoneal Mencit Jantan Galur DDY

Yani Triyani, Irna Herliani, Nurul Patrisia, Sadiyah Achmad, Eka Hendyanny, Julia Hartati

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung

Abstrak

Angka kejadian penyakit infeksi di Indonesia masih tinggi, dengan angka mortalitas 230 kematian per 100.000 populasi. Dampak hal tersebut adalah penggunaan antibiotik yang tidak terkendali menyebabkan resistensi obat dan *multidrug resistant* bahkan *extensive drug resistant*. Konsumsi substansi yang berfungsi imunomodulator menjadi salah satu alternatif pemecahan. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui apakah ekstrak etanol ceplukan (*Physalis angulata*) yang memiliki efek imunomodulator berpengaruh pada aktivitas fagositosis makrofag intraperitoneal mencit jantan galur DDY, serta menilai optimasi dosis ekstrak etanol ceplukan, dan membandingkan efeknya dengan obat herbal imunomodulator terstandar. Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium dengan subjek 25 ekor mencit jantan galur DDY yang dibagi lima kelompok. Setiap kelompok diberi perlakuan yang sama selama tujuh hari. Kelompok I (kontrol negatif) tidak diberikan ekstrak etanol ceplukan, kelompok II, III, dan IV diberikan ekstrak etanol ceplukan dengan dosis 12,5%, 25%, dan 50%, serta kelompok V (kontrol positif) diberikan obat herbal imunomodulator terstandar dosis 50 µL. Pada hari ke-8, dilakukan pengukuran aktivitas fagositosis makrofag intraperitoneal dengan melihat jumlah makrofag yang memfagosit biji lateks. Uji statistik yang digunakan adalah Kruskal-Wallis, Mann-Whitney, dan *independent t-test*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol ceplukan dosis 12,5% (rata-rata: 10, SD: 11,5) dan 25% (rata-rata: 14, SD: 8,5) secara signifikan meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag dibanding dengan kontrol negatif. Ekstrak etanol ceplukan dosis 25% tidak berbeda bermakna dibanding dengan obat imunomodulator (rata-rata: 13, SD: 8,26; $p=0,05$). Simpulan, ekstrak etanol ceplukan meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag intraperitoneal dengan dosis optimum 25% dan memiliki efek yang sama dengan obat herbal imunomodulator terstandar.

Kata kunci: Aktivitas fagositosis, biji lateks, ekstrak etanol ceplukan, mencit jantan galur DDY

Dosage Optimization and Comparison of Ethanol Extract of Ceplukan (*Physalis angulata*) to Standardized Immunomodulator Herbal Medicine on Intraperitoneal Macrophage of Male Mice DDY Strain

Abstract

Number of infection disease are still in Indonesia. There were 230 people died from 100,000 population. The impact is Indonesia still face uncontrolled use of antibiotic which cause multidrug resistant even extensive drug resistant. The use of immunomodulator became the alternative solutions. This study aims was to describe whether there were an ability of *Physalis angulata* as an immunomodulator for the activity in macropag phagocytosis in DDY male rats. It also aim to identify extract optimization and compare it with the standard herbal immunomodulator. This was an experimental study with 25 male DDY rats divided into 5 groups. Group I as control negative was not given any ceplukan ethanol extract, group II, III and IV were given ceplukan ethanol extract with 12.5%, 25% and 50% dosage respectively and group V acted as positive control fed by standard herbal immunomodulator. On the 8th day intraperitoneal macrophage phagocytosis were measured by counting the number of macrophage which consumed the latex seeds. Statistical analysis used was Kruskal-Wallis, Mann-Whitney, and independent t-test. The results from this study showed that ceplukan ethanol extracts with the dosage of 12.5% (mean: 10, SD: 11.5) and 25% (mean: 14; SD: 8.5) significantly increased the phagocyte activity of macrophage compared to negative control. However 25% ceplukan ethanol extracts had no significant difference compared to standar herbal immunomodulator (mean: 13, SD: 8.25, $p>0.05$). The conclusions are ceplukan ethanol extract increases the phagocyte activity of macrophage with optimum dosage of 25% and possess the same effect with standard herbal immunomodulator.

Key words: Latex seeds, male DDY rats, phagocytes activities, *physalis angulata*

Korespondensi: y3yani78@gmail.com

Pendahuluan

Indonesia saat ini mempunyai beban ganda dalam hal upaya pembangunan kesehatan yaitu peningkatan kembali beberapa penyakit menular (*re-emerging diseases*) sementara itu penyakit degeneratif mulai meningkat yang disebabkan antara lain perubahan pada pola gaya hidup. Di samping itu timbul pula berbagai penyakit yang baru (*new emerging diseases*) seperti Avian influenza atau flu burung dan *hand, foot and mouth disease*.¹

Berdasarkan atas *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2008 menunjukkan bahwa dari 56 juta jumlah kematian, 21 juta diakibatkan penyakit infeksi, sedangkan sisanya diakibatkan penyakit noninfeksi. Angka mortalitas penyakit infeksi pada tahun 2008 adalah 230 kematian per 100.000 populasi.²

Berdasarkan atas Profil Kesehatan Indonesia tahun 2010 dinyatakan bahwa urutan 3 teratas dari 10 penyakit terbanyak pasien rawat inap di rumah sakit adalah penyakit infeksi, yaitu diare, demam berdarah dengue, serta demam tifoid dan paratifoid.^{2,3}

Menurut data Profil Kesehatan Jawa Barat tahun 2007, angka kejadian beberapa penyakit infeksi antara lain pneumonia 539.791 kasus, tuberkulosis (TB) 230.643 kasus, malaria 57.235 kasus, demam berdarah dengue (DBD) 31.346 kasus, serta *human immunodeficiency virus* (HIV) 1.638 kasus.⁴ Penyakit infeksi di Kota Bandung pada tahun 2007 menurut Profil Kesehatan Kota Bandung tahun 2007 dilaporkan jumlah kasus pneumonia sebanyak 11.189, TB 1.194 kasus, DBD 4.717 kasus, dan HIV 344 kasus.⁵ Data tersebut jelas menunjukkan bahwa angka kejadian penyakit infeksi di Indonesia khususnya Jawa Barat masih sangat tinggi.

Suatu penyakit umumnya dapat terjadi karena dipengaruhi oleh tiga hal yaitu sel pejamu (*host*), patogen (agen infeksi), dan lingkungan. Di dalam lingkungan terdapat banyak patogen yang dapat mengakibatkan berbagai penyakit yaitu bakteri, virus, parasit, dan mikroba lainnya.⁶ Keadaan tersebut menunjukkan bahwa patogen tersebar luas di dalam lingkungan sehingga sulit untuk dihindari, oleh sebab itu salah satu cara yang dapat dilakukan untuk menghindari infeksi patogen yaitu meningkatkan sistem imun *host*.

Peningkatan pada sistem imun *host* dapat ditandai dengan terjadi peningkatan aktivitas dan juga kapasitas fagositosis makrofag. Makrofag

merupakan salah satu sel yang berperan penting dalam respons imun yang memiliki aktivitas fagositosis,⁷ sehingga makrofag dapat dijadikan indikator untuk menilai keberhasilan *host* dalam melawan patogen.

Terdapat penelitian untuk dapat mengukur aktivitas fagositosis sel makrofag peritoneum kucing yang diinfeksi dengan *Mycobacterium tuberculosis* (M tb), diuji fagositosis nonspesifik secara *in vitro* dengan mempergunakan biji lateks.⁷ Penelitian tersebut menunjukkan bahwa aktivitas makrofag peritoneum dapat dijadikan tanda peningkatan sistem imun.

Salah satu cara untuk dapat meningkatkan fungsi sistem imun tubuh yaitu mengonsumsi zat atau substansi yang berfungsi sebagai imunomodulator. Imunomodulator ialah substansi atau obat yang dapat memodulasi fungsi dan aktivitas sistem imun. Imunomodulator terbagi menjadi tiga kelompok: imunostimulator yang berfungsi meningkatkan fungsi serta aktivitas sistem imun; suatu imunoregulator yang dapat meregulasi sistem imun; dan immunosupresor yang mampu menghambat/menekan aktivitas sistem imun. Bahan yang dapat menstimulasi sistem imun itu disebut *biological response modifiers* (BRM) yang dibagi menjadi 2 (dua) kelompok yaitu bahan biologis dan sintetik. Termasuk dalam bahan biologis di antaranya sitokin (interferon), hormon timus, antibodi monoklonal, serta tanaman obat (herbal), sedangkan bahan sintetik antara lain senyawa muramil dipeptida (MDP) dan levamisol.⁸

Salah satu contoh imunomodulator bahan biologis adalah berupa tanaman obat (herbal). Di Indonesia tanaman obat telah digunakan secara turun-temurun untuk pengobatan. Kebanyakan tanaman obat yang telah diteliti bekerja sebagai imunostimulator. Pemakaian tanaman obat sebagai imunostimulator tersebut bertujuan merangsang pertumbuhan sel-sel pertahanan tubuh dalam sistem kekebalan. Tanaman yang telah diketahui memiliki efek imunomodulator antara lain meniran (*Phyllanthus niruri*), lidah buaya (*Aloe vera*), *purple coneflower* (*Echinacea purpurea*), mengkudu (*Morinda citrifolia*), dan jahe (*Zingiber officinale*).⁹ Tanaman obat lainnya yang dapat diteliti memiliki efek sebagai imunomodulator antara lain tanaman ceplukan (*Physalis angulata* L.).

Salah satu imunomodulator dari bahan herbal alami terstandar dan telah terdaftar sebagai fitofarmaka adalah ekstrak tanaman meniran

(*Phyllanthus niruri*). Sebagai imunomodulator, meniran dapat mengaktifkan sistem imun agar bekerja secara optimal.¹⁰ Berdasarkan penelitian oleh Sunarno¹¹ memperlihatkan ternyata bahwa tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*) memiliki efek imunomodulator yang dapat meningkatkan sistem imun dan dapat mengeliminasi bakteri *Salmonella*.

Januário dkk.¹² menguji aktivitas antimikrob ekstrak murni herbal *Physalis angulata* L. yang terdiri atas *physalin* B, D, dan F menunjukkan bahwa kadar hambat minimum (KHM) dalam menghambat *M. tb* H37Rv sebesar 32 µg/mL. *Physalin* B dan D murni juga menunjukkan nilai KHM dalam menghambat *M. tb* H37Rv sebesar 128 µg/mL dan 32 µg/mL masing-masing. Penelitian tersebut membuktikan *physalin* D berperan penting pada aktivitas antimikrob yang ditunjukkan.¹²

Menurut penelitian Pietrodck,¹³ *physalin* dari ekstrak *Physalis angulata* mempunyai aktivitas antimikrob untuk melawan *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tb*), *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium malmoense*, dan *Mycobacterium intracellulare*.

Penelitian oleh Guimarães dkk.¹⁴ menyatakan bahwa *physalin* yang dipurifikasi dari *Physalis angulata* mempunyai efek imunomodulator. Penelitian dilakukan secara *in vivo* pada mencit galur BalB/C yang diinfeksi *Leishmania*.

Penelitian oleh Silvia dkk.¹⁵ menunjukkan bahwa *physalin* B, D, F, dan G dari *Physalis angulata* memiliki aktivitas antimikrob dalam menghambat *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538P, dan *N. gonorrhoeae* ATCC 49226 pada konsentrasi 200 mg/µL menggunakan pengukuran dilusi agar.

Berdasarkan atas penelitian yang sebelumnya telah dinyatakan bahwa kandungan dari ekstrak ceplukan (*Physalis angulata*) berfungsi sebagai imunomodulator dan juga antimikrob. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui ekstrak etanol ceplukan (*Physalis angulata*) yang mempunyai efek sebagai imunomodulator berpengaruh pada aktivitas fagositosis makrofag intraperitoneal serta menilai optimasi dosis ekstrak etanol ceplukan dan membandingkan efeknya dengan obat herbal imunostimulan terstandar.

Metode

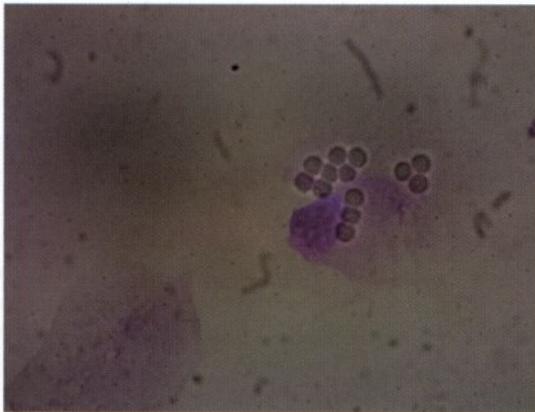
Subjek penelitian adalah mencit jantan galur DDY. Sebelum dilakukan penelitian ini subjek

penelitian diadaptasi selama tujuh hari. Setelah diadaptasikan, subjek penelitian dibagi menjadi 5 (lima) kelompok perlakuan. Kriteria inklusi subjek penelitian adalah mencit jantan galur DDY, dalam keadaan sehat, memiliki bulu yang bersih, dapat bergerak aktif, memiliki cuping tegak dan mata yang jernih, bobot badan 20–30 gram, umur 6–8 minggu. Kriteria eksklusi adalah selama diadaptasikan mencit tersebut mati, sakit, dan bobot badan mencit menurun sebesar 10%. Jumlah subjek penelitian yang digunakan pada penelitian ini menggunakan perhitungan rumus Frederer, yaitu digunakan lima mencit untuk setiap kelompok sehingga jumlah subjek penelitian adalah 25 ekor mencit.

Bahan penelitian yang dipergunakan adalah ekstrak etanol ceplukan, mencit jantan galur DDY, imunomodulator mengandung meniran, media *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) 1640, *phosphate buffered saline* (PBS), metanol, giemsa 20%, akuades, biji lateks, alkohol 70%, dan kloroform.

Alat yang dipergunakan pada penelitian ini adalah kandang mencit, tempat makan, tempat minum, timbangan, tabung sentrifus, tabung eppendorf, pipet mikro 100 µL dan 1.000 µL, mikroskop cahaya, hemositometer *improved* Neubauer, minyak emersi, sarung tangan, masker, *microplate 24 well*, inkubator, *object glass*, *coverslip* bulat, spuit injeksi 5 cc, toples, kapas, *laminar flow*, tips kuning dan biru, pipet Pasteur, jarum pentul, alas bedah, pinset, gunting, serta tisu.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris. Subjek dibagi menjadi 5 (lima) kelompok terdiri atas kelompok I tidak diberi ekstrak etanol ceplukan, kelompok II diberi ekstrak etanol ceplukan dosis 12,5%, kelompok III diberi ekstrak etanol ceplukan dosis 25%, kelompok IV diberi ekstrak etanol ceplukan dosis 50%, dan kelompok V diberi obat imunomodulator sebagai kontrol positif. Semua subjek penelitian akan menjalani masa adaptasi selama tujuh hari. Setelah masa adaptasi, mencit dimatikan dengan cara dimasukkan ke dalam toples yang telah diberi kloroform dan kemudian disimpan di alas bedah dengan posisi terlentang dan bagian tangan kanan kiri, serta kaki kanan kiri diberi jarum pentul. Bagian bawah perut mencit dibedah untuk memudahkan penyuntikan cairan di intraperitoneal. Area yang akan disuntikkan dibersihkan dengan menggunakan alkohol,



Gambar 1 Fagositosis Makrofag terhadap Biji Lateks

kemudian disuntikkan 5 mL cairan RPMI dingin intraperitoneal secara perlahan, ditunggu 3–5 menit. Cairan intraperitoneal diaspirasi dengan mempergunakan spuit injeksi. Aspirat yang didapat dimasukkan ke dalam tabung sentrifus dan disentrifus pada 1.200 rpm, 4 °C, selama 10 menit. Supernatan dibuang dan cuci dua kali dengan 2 mL PBS. Ditambahkan 600 µL RPMI dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf. Jumlah sel yang didapat dihitung menggunakan hemositometer, diresuspensi hingga didapatkan kepadatan sebesar $2,5 \times 10^6$ sel/mL dan dilakukan pengenceran. Suspensi sel yang didapat dikultur pada sumuran *microplate* 24 yang telah diberi *coverslip* bulat, setiap sumuran 200 µL (5×10^5 sel/mL) dan ditambahkan RPMI 800 µL. Inkubasi dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 1 jam.

Setelah itu dilakukan uji fagositosis, yaitu

makrofag yang sudah dikultur dicuci sebanyak 2 kali dengan RPMI. Ditambahkan suspensi biji lateks sebanyak 500 µL. Dilakukan inkubasi dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 30 menit, kemudian *coverslip* dicuci dengan PBS sebanyak dua kali dan difiksasi dengan metanol selama 30 detik. Setelah itu metanol dibuang, ditunggu sampai kering dan dilakukan pewarnaan dengan giemsa 20% selama 30 menit kemudian dicuci dengan akuades. *Coverslip* diangkat, diletakkan pada *object glass*, diperiksa di bawah mikroskop pembesaran 1.000x, dan dihitung makrofag yang memfagosit biji lateks dalam 50 makrofag.

Penelitian ini berdasarkan konsep 3R yaitu *refinement*, *reduction*, dan juga *replacement*.¹⁶ Prinsip *refinement* adalah pemberian anestesi kloroform untuk anestesi mencit yang telah dilakukan pengambilan makrofag peritoneum untuk dapat meminimalkan stres dan rasa nyeri pada hewan uji. *Reduction* yaitu jumlah sampel yang dipergunakan minimal. Prinsip *replacement* yaitu menggunakan metode lain yang tidak menggunakan hewan hidup, seperti menggunakan metode *in vitro*, tetapi tujuan penelitian tetap tercapai.

Hasil

Gambaran hasil penelitian aktivitas fagositosis makrofag yang memfagosit biji lateks dapat dilihat pada Gambar 1.

Jumlah sel makrofag rata-rata yang dapat memfagosit biji lateks pada 5 (lima) kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Uji normalitas yang dipergunakan adalah metode Uji normal Shapiro-Wilk yaitu untuk

Tabel 1 Jumlah Makrofag Rata-rata yang Memfagosit Biji Lateks

Kelompok	Rata-rata	Standar Deviasi
I	5	1,78
II	10	11,50
III	14	8,50
IV	2	3,94
V	13	8,26

Keterangan: Kelompok I (kontrol negatif): Mencit tidak diberi ekstrak etanol ceplukan
 Kelompok II : Mencit diberi ekstrak etanol ceplukan dosis 12,5%
 Kelompok III : Mencit diberi ekstrak etanol ceplukan dosis 25%
 Kelompok IV : Mencit diberi ekstrak etanol ceplukan dosis 50%
 Kelompok V : Mencit diberi obat imunomodulator yang mengandung meniran dosis 50 µL

Tabel 2 Uji Normalitas Data Aktivitas Fagositosis Makrofag pada Kontrol Negatif, Ceplukan Dosis 12,5%, Ceplukan Dosis 25%, Ceplukan Dosis 50%, dan Obat Imunomodulator (Kontrol Positif)

Kelompok Perlakuan	Jumlah Makrofag yang Memfagosit Biji Lateks	
	Nilai p	Distribusi Data
I	0,377	Normal
II	0,077	Normal
III	0,873	Normal
IV	0,001	Tidak normal
V	0,603	Normal

*Uji Shapiro-Wilk

data numerik dengan besar sampel ≤ 50 sampel. Berikut disajikan secara lengkap perhitungan hasil uji normalitas data aktivitas fagositosis makrofag pada semua kelompok uji. Hasil uji normalitas data dapat dilihat pada Tabel 2.

Uji normalitas Shapiro-Wilk menunjukkan data yang tidak berdistribusi normal (nilai $p < 0,05$) yaitu pada data aktivitas fagositosis makrofag pada kelompok IV ceplukan dosis 50% sehingga pengujian selanjutnya dilakukan dengan pengujian nonparametrik yaitu Uji Kruskal-Wallis.

Berdasarkan Uji Kruskal-Wallis didapatkan $p = 0,049$ memperlihatkan perbedaan signifikan aktivitas fagositosis sel makrofag pada kontrol negatif, ceplukan dengan dosis 12,5%, ceplukan dengan dosis 25%, ceplukan dosis 50%, dan obat imunomodulator (kontrol positif).

Dosis yang optimum ekstrak etanol ceplukan atau *Physalis angulata* terhadap aktivitas fagositosis sel makrofag pada mencit jantan galur DDY dapat diperoleh melalui Uji Mann-Whitney yang dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan hasil Uji Mann-Whitney terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok III (ekstrak etanol ceplukan dosis 25%) dengan nilai $p = 0,05$. Ekstrak etanol ceplukan dosis 25% merupakan dosis optimum meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag.

Teknik analisis data yang digunakan untuk

dapat menilai perbandingan aktivitas fagositosis sel makrofag ekstrak etanol ceplukan dosis optimum (25%) dengan obat imunomodulator (kontrol positif) adalah uji *independent-t*.

Berdasarkan hasil uji *independent-t* itu diperoleh nilai $p = 0,827$, dengan demikian tidak terdapat perbedaan yang signifikan aktivitas fagositosis makrofag pada ceplukan dosis 25% dengan obat imunomodulator (kontrol positif).

Pembahasan

Analisis statistik menunjukkan dosis optimum ekstrak etanol ceplukan (*Physalis angulata*) terhadap aktivitas fagositosis makrofag pada mencit jantan galur DDY adalah 25%. Ekstrak etanol ceplukan mengandung flavonoid yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag. Keadaan ini sesuai dengan penelitian bahwa kandungan flavonoid dalam propolis berpengaruh pada daya fagosit sel makrofag peritoneal mencit.¹⁷

Pemberian ekstrak etanol ceplukan dengan dosis yang lebih tinggi yaitu pada dosis 50% memberikan efek aktivitas fagositosis makrofag yang lebih rendah dibanding dengan dosis 25%. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian dosis yang besar justru akan bersifat immunosupresan.

Hal tersebut disebabkan karena ceplukan mengandung zat aktif lain yaitu *physalin* yang

Tabel 3 Uji Mann-Whitney Data Aktivitas Fagositosis Makrofag pada Kontrol Negatif, Ceplukan Dosis 12,5%, Ceplukan Dosis 25%, dan Ceplukan Dosis 50%

Kelompok		Nilai p	Simpulan
I	VS II	0,41	Tidak ada perbedaan
I	VS III	0,05	Terdapat perbedaan bermakna
I	VS IV	0,06	Tidak ada perbedaan

bersifat immunosupresan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dinyatakan bahwa ekstrak *Physalis angulata* yang mengandung *physalin* B, F atau G, dapat menghambat aktivasi sel makrofag.

Jika dibanding dengan tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*), ekstrak etanol ceplukan mempunyai efek yang sama terhadap aktivitas makrofag. Hal itu disebabkan karena meniran mengandung zat aktif yang sama dengan ceplukan 'flavonoid'. Berdasarkan penelitian Sunarno,¹¹ tanaman meniran atau *Phyllanthus niruri* yang mengandung flavonoid memiliki efek immunomodulator.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh simpulan bahwa ekstrak etanol ceplukan meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag. Dosis ekstrak etanol ceplukan 25% adalah dosis optimum untuk meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag bila dibanding dengan obat immunomodulator mengandung meniran (*Phyllanthus niruri*) yang terstandarisasi memiliki efek yang sama.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini dapat terlaksana atas bantuan biaya dari Hibah LPPM. Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pimpinan Fakultas Kedokteran Islam Bandung, Lab PAU MIPA ITB, dan Fakultas Kedokteran Hewan UGM sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

Daftar Pustaka

1. Kementerian Kesehatan. Pusat Data dan Informasi. Profil Kesehatan Indonesia 2012. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2013.
2. World Health Organization. WHO Health Statistics 2011. [diunduh 31 Desember 2012]. Tersedia dari: <http://www.who.int/gho/tb/en/index.html>.
3. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Profil Kesehatan Indonesia 2010. 2011. [diunduh 24 Desember 2012]. Tersedia dari: <http://www.depkes.go.id>.
4. Dinas Kesehatan Jawa Barat. Profil Kesehatan Provinsi Jawa Barat 2007. 2008. Tersedia dari: <http://www.depkes.go.id/downloads/profil/prov%20jabar%202007.pdf>
5. Profil Kesehatan Kota Bandung Tahun 2007. [diunduh 24 Desember 2012]. Tersedia dari: http://www.depkes.go.id/downloads/profil/profil_kesehatan_kota_bandung.pdf.
6. Books GF, Carrol KC, Butel J, Morse S, penyunting. Jawetz, Melnick & Adelberg's. Medical microbiology. Edisi ke-24. New York: McGraw Hill Companies, Inc.; 2007.
7. Farida JR. Studi perbandingan aktivitas fagositosis makrofag terhadap *Mycobacterium tuberculosis* sensitif dan resisten isoniazid. *Logika*. 2005 Jul;2(2): 47-56.
8. Wiedosari E. Peranan immunomodulator alami (*Aloe vera*) dalam sistem imunitas seluler dan humoral. *Wartazoa*. 2007 Des: 165-71.
9. Suhirman S, Winarti C. Prospek dan fungsi tanaman obat sebagai immunomodulator. Tersedia dari: <http://balitro.litbang.pertanian.go.id/ind/images/file/Perkembangan%20TRO/edsus19n01/4Obat.pdf>.
10. Ifandari, Suranto, Wuryaningsih YNS. Pengaruh pemberian ekstrak meniran merah (*Phyllanthus niruri*) terhadap penekanan jumlah limfosit pada organ timus mencit BalB/C yang diinfeksi bakteri *Salmonella thypi*. *Bioteknologi*. 2012;9(1):1-6.
11. Sunarno. Pengaruh meniran (*Phyllanthus niruri* L) terhadap patogenesis infeksi *Salmonella*. *Kefarmasian Indonesia*. 2009;1(2):71-6.
12. Januário AH, Filho ER, Pietro RC, Kashima S, Sato DN, França SC. Antimycobacterial physalins from *Physalis angulata* L. (Solanaceae). *Phytother Research*. 2002 Aug;16(5):445-8.
13. Pietro RC, Kashima S, Sato DN, Januário AH, França SC. In vitro antimycobacterial activities of *Physalis angulata* L. *Intern J Phytother Phytopharmacol*. 2000 Jul;7(4):335-8.
14. Guimarães ET, Lima MS, Santos LA, Ribeiro IM, Tomassini TB, Ribeiro dos Santos R, dkk. Activity of physalins purified from *Physalis angulata* in in vitro and in vivo models of cutaneous leishmaniasis. *J Antimicrob Chemother*. 2009 May 19;64(1):84-7.
15. Silva MT, Simas SM, Batista TG, Cardarelli P, Tomassini TC. Studies on antimicrobial activity, in vitro, of *Physalis angulata* L. (Solanaceae) fraction and physalin

- B bringing out the importance of assay determination. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2006 Jan 9;100(7):779–82.
16. Mustafiah SE, Fatmawati D, Yusuf I. Indeks daya fagosit makrofag peritoneum setelah pemberian propolis pada mencit (*Mus musculus*). *Sains Medika*. 2011;3(2):121–8.
17. Rasad A. Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan. Suplemen II Etik Hewan Percobaan. Jakarta: Komisi Nasional Etik Penelitian Kesehatan Departemen Kesehatan RI; 2006.