

Ekstrak Pegagan Meningkatkan Titer Antibodi Mencit Setelah Diinfeksi *Salmonella typhi*

(*CENTELLA ASIATICA EXTRACT INCREASE ANTIBODY TITER IN MICE AFTER SALMONELLA TYPHI INFECTION*)

I Nengah Kerta Besung¹, I Nyoman Mantik Astawa²,
I Ketut Suatha³, Hartaningsih⁴

¹Lab Mikrobiologi, ²Lab Virologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana
Jl PB Sudirman, Denpasar, Bali
Telp. 0361-223791; Faks. 0361-701808
Email:kertabesung@fkh.unud.ac.id
³Lab Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Unud
⁴Balai Besar Veteriner, Denpasar

ABSTRACT

A study was conducted to find out the ability of *Centella asiatica* (*C. asiatica*) in enhancing antibody response of *C. asiatica* treated mice following *Salmonella typhi* (*S. typhi*) infections. It is therefore expected that herbal drug such as *C. asiatica* can be used as an alternative medicine to prevent and to cure salmonellosis both in animals and human. Experimental laboratory studies were conducted using Completely Factorial Randomized Design. Mice were divided into four groups and they were treated respectively with destilated water (negative control), 125, 250, and 500 mg/kg BW/day of *C. asiatica* extract. The treatment was conducted daily for two weeks and the mice were inoculated with 10^5 cells/ml of *S. typhi*. The antibody response were examined by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) on first day, second week and fourth week after *S. typhi* infections. The result showed that treatment of mice with *C. asiatica* extract significantly ($p < 0,05$) enhanced antibody titer of Balb/c mice after *S. typhi* infections. The highest antibody titer was observed at four weeks after *S. typhi* infections with 500 mg/kg BW/day ($94,0370 \pm 1,69$ IU).

Key words : pegagan, *C. asiatica*, antibody, *S. Typhi*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap peran pegagan dalam meningkatkan titer antibodi terhadap *Salmonella typhi*. Hasil yang diharapkan adalah adanya bahan herbal sebagai alternatif dalam mencegah penyakit *salmonellosis* baik pada hewan maupun pada manusia. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial. Mencit dikelompokkan dalam empat kelompok, setiap kelompok berturut-turut diberikan aquades sebagai kontrol, ekstrak pegagan 125, 250, dan 500 mg/kg berat badan (BB), setiap hari selama dua minggu. Pada hari ke-15 mencit diinfeksi dengan 10^5 sel/mL *S. typhi*. Pengamatan titer antibodi dilakukan dengan metode ELISA pada hari pertama, minggu kedua, dan minggu ke empat setelah infeksi *S. typhi*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak pegagan meningkatkan secara bermakna ($p < 0,05$) titer antibodi mencit terhadap *S. typhi*. Titer antibodi tertinggi ditemukan pada minggu ke empat dengan pemberian pegagan dosis 500 mg/kg BB sebesar $94,0370 \pm 1,6951$ IU.

Kata kunci : pegagan, *Centella asiatica*, *Salmonella typhi*

PENDAHULUAN

Salmonellosis yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* dapat menimbulkan infeksi pada usus. Pada manusia penyakit ini sering dikenal dengan demam tifoid atau penyakit tifus. Sampai saat ini, demam tifoid masih menjadi masalah kesehatan di negara berkembang, umumnya di daerah tropis dan khususnya di Indonesia. Hewan dapat terjangkit *salmonellosis* di antaranya unggas, babi, sapi, kerbau, anjing, kucing, tikus, dan hewan peliharaan seperti iguana, tortoise, dan kura-kura. Hewan yang terinfeksi *S. typhi* dapat berperan sebagai reservoir penyakit tanpa menunjukkan gejala klinis (Supali, 2002; Santander *et al.*, 2003).

Pemberian khloramfenikol merupakan terapi pilihan terhadap penanganan *salmonellosis*, sedangkan seftriakson masih dalam tahap uji klinis dengan hasil penelitian pendahuluan memberikan efektivitas yang memuaskan (Musnelina *et al.*, 2004). Selama ini penggunaan antibiotik mengalami kendala, yaitu terbatasnya jenis antibiotik yang efektif terhadap kuman *S. typhi*, dan sering terjadi resistensi kuman terhadap antibiotik yang diberikan.

Kendala lain yang sering dihadapi dalam penanganan *salmonellosis* adalah biaya perawatan yang mahal dan pemulihan infeksi yang lama, maka di masa mendatang perlu diupayakan pencegahan *salmonellosis* secara mudah, efektif, dan murah. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mencegah kejadian *salmonellosis* adalah dengan jalan meningkatkan respons imun terhadap infeksi (Tizard, 2000).

Pegagan (*Centella asiatica*) ditenggarai berperan meningkatkan respons imun. Kandungan triterfenoid safonin pada pegagan ini, mampu meningkatkan secara bermakna total sel darah putih dan meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag terhadap pembersihan karbon (Jayathirtha dan Mishra, 2004). Komposisi bioaktif poliasetil berguna meningkatkan apoptosis sebesar 63% dan meningkatkan produksi nitrit oksid sebanyak 70% (Govindan *et al.*, 2007).

Mekanisme pegagan dalam mengaktifkan makrofag belum jelas. Namun, diduga komponen pegagan seperti triterfenoid ditangkap oleh makrofag melalui reseptor protein-G (Ito *et al.*,

2000). Protein-G dengan GDP yang terdapat di dalam membran sel, akan mendekati ligan tersebut, yang selanjutnya mengalami berbagai reaksi biokimia di dalam sel makrofag, sehingga terjadi aktivasi makrofag (Nauclér, 2002).

Aktivasi makrofag diikuti dengan diferensiasi dan proliferasi. Diferensiasi merupakan rangkaian transisi dari monoblas ke promonosit, monosit dan makrofag, sedangkan proliferasi merupakan proses pembelahan makrofag muda. Proses diferensiasi dan proliferasi ini menyebabkan peningkatan jumlah makrofag yang beredar di dalam tubuh. Aktivasi makrofag ditandai dengan peningkatan kemampuan fagositosis terhadap antigen yang ada di dalam tubuh (Stite, 1991). Adanya aktivasi makrofag akan meningkatkan secara bermakna nitrogen intermediet reaktif dan caspase-3 pada proses apoptosis makrofag. Aktivasi makrofag juga diikuti oleh meningkatnya kadar TNF-alpha, interleukin-1 (IL-1) alpha dan IL-6. Kondisi ini akan memungkinkan pelenyapan kuman secara lebih mudah dan efisien (Chanana *et al.*, 2007).

Senyawa IL-6 yang dihasilkan oleh makrofag dan IL-2 yang dihasilkan oleh sel-T *helper* secara bersama-sama mendorong diferensiasi dan proliferasi limfosit-B. Diferensiasi limfosit-B sangat penting untuk tahap perkembangan dalam mengatur jumlah immunoglobulin (Ig) yang dihasilkan (Papanicolaou *et al.*, 2000). Aktivasi sel-B tidak hanya disebabkan oleh IL-6, tetapi juga dibantu oleh IL-4 yang berfungsi mengaktifkan sel-B yang sedang istirahat dan IL-5 yang berfungsi memacu pertumbuhan sel-B yang sudah aktif. Keempat interleukin tersebut memacu sel-B untuk menghasilkan antibodi (Noss *et al.*, 2001).

Selama ini, penelitian mengenai manfaat pegagan sebagai obat herbal pada manusia maupun pada hewan sudah banyak diungkapkan. Namun, kajian yang mengungkap kemampuan pegagan dalam meningkatkan respons imun khususnya terhadap peningkatan titer antibodi terhadap *S. typhi* belum pernah diungkapkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap peran pegagan dalam meningkatkan titer antibodi terhadap *S. typhi*. Hasil yang diharapkan adalah adanya bahan herbal sebagai alternatif dalam mencegah penyakit *salmonellosis* baik pada hewan maupun pada manusia.

METODE PENELITIAN

Sampel penelitian adalah mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c yang berumur 8-12 minggu, berbobot antara 20-35 g, jenis kelamin jantan, dan dalam kondisi sehat. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial. Mencit sebanyak 48 ekor dibagi ke dalam empat kelompok, masing-masing kelompok secara berturut-turut diberi aquades steril sebagai kontrol (kelompok I), pemberian pegagan 125 (kelompok II), 250 (kelompok III), dan 500 mg/kg BB (kelompok IV). Pemberian pegagan dilakukan secara per oral setiap hari selama 14 hari. Pada hari ke 15 dilakukan infeksi kuman *S. typhi* sebanyak 10^5 sel per ml PBS per ekor secara intraperitoneal. Infeksi *S. typhi* ini didasarkan atas hasil uji *lethal dose* 50 (LD_{50}). Sehari setelah infeksi *S. typhi* darah mencit diambil dan diendapkan untuk diambil serumnya sebagai bahan pengujian titer antibodi. Pengambilan darah juga dilakukan setelah dua minggu dan empat minggu infeksi *S. typhi*.

Bahan penelitian berupa daun pegagan diperoleh dari Desa Kesimpar, Kecamatan Abang, Kabupaten Karangasem, Propinsi Bali. Daun pegagan diambil dalam keadaan segar, berwarna kehijauan, tampilannya utuh, dan dikeringkan dengan cara mengangin-anginkannya. Ekstrak pegagan dibuat dengan metode yang dilakukan oleh Antony *et al.*, (2006). Daun pegagan kering dihancurkan dengan *blender* dan diekstraksi dengan pelarut metanol. Selanjutnya disaring dengan kertas Whatman no 42, dan diuapkan dengan *rotary evaporator*. Isolat kuman *S. typhi* diperoleh dari Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Antigen *S. typhi* menggunakan antigen *Salmonella* O Grup D (Produksi AIM *Salmonella* Antigen) dalam *phosphat buffer saline* (PBS).

Pengukuran Titer Antibodi terhadap *S. typhi*

Pengukuran titer antibodi terhadap *S. typhi* yang dihasilkan oleh mencit Balb/c yang diamati sehari, minggu kedua, dan minggu ke empat setelah infeksi *S. typhi*, diukur dengan teknik *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) tidak langsung. Semua plat dilapisi dengan *amino profyltric theoxy* (APES) 2% sebanyak 50 μ m, lalu tambahkan antigen *S. typhi* (Antigen *Salmonella* O Grup D dari AIM) dalam PBS dengan perbandingan 1 : 200

sebanyak 40 μ m dan diinkubasikan pada suhu 37-°C selama 24 jam. Semua plat dicuci dengan *phosphate buffer saline tween* (PBST) 0,1% sebanyak dua kali, lalu diisi susu skim 5% sebagai *blocking* dan diinkubasikan selama dua jam. Selanjutnya dicuci dengan PBST sebanyak dua kali, lalu ditambahkan serum yang sudah diencerkan kelipatan dua mulai dari pengenceran 1:200 sampai 1:6400. Diinkubasikan selama satu jam pada suhu 37°C. Dicuci dua kali dengan PBST dan ditambahkan konjugat IgG *horse radish peroxidase* 1:100.000 dalam susu skim 1% dalam PBST. Selanjutnya diinkubasikan selama 45 menit dan dicuci dengan PBST sebanyak empat kali. Tambahkan substrat 3,32,5,52-*tetramethylbenzidine* (KPL lot No. 09982 dan lot No. 090983). Pembacaan hasil dilakukan pada ELISA reader model DAX 800 (*Diagnostic Automatic*, USA) menggunakan filter dengan panjang gelombang 450 nm. Titer antibodi ditentukan dengan memakai skala 0-100 dengan satuan internasional unit (IU). Sampel negatif atau sampel yang diambil dari serum mencit tanpa mendapat pegagan dan tidak pernah terpapar *S. typhi* diberi skala 0, sedangkan sampel positif atau sampel yang menunjukkan nilai OD tertinggi diberi skala 100.

Penentuan nilai ELISA unit memakai rumus (View EU, 2010):

$$\frac{\text{Rataa OD sampel} - \text{Rataan OD negatif}}{\text{Rataan OD positif} - \text{Rataan OD negatif}} \times 100$$

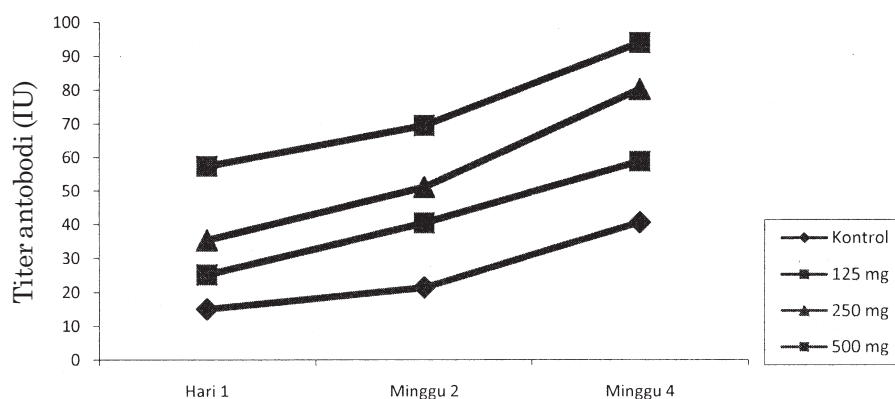
Analisis Data

Perbedaan kelompok dianalisis dengan sidik ragam yang dilanjutkan dengan uji *least significant difference* (LSD) dengan program SPSS. Derajat kemaknaan ditetapkan dengan $\alpha > 0,05$ (Sampurna, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ELISA terhadap titer antibodi mencit yang diinfeksi dengan *S. typhi* pada hari pertama, minggu kedua, dan ke empat disajikan pada Gambar 1.

Titer antibodi tampak meningkat (Gambar 1) seiring dengan meningkatnya dosis pegagan dan waktu pengamatan. Makin tinggi dosis pegagan yang diberikan pada mencit makin meningkat titer antibodinya. Begitu juga terhadap waktu pengamatan. Titer antibodi mencit tertinggi terlihat pada pemberian dosis



Gambar 1. Titer antibodi pada masing-masing kelompok pada hari pertama, minggu kedua, dan minggu keempat setelah infeksi *S. typhi*.

pegagan 500 mg/kg BB pada minggu ke empat yaitu $94,04 \pm 1,70$ IU, dan titer terendah terjadi pada kontrol sehari setelah infeksi *S. typhi* yaitu $15,04 \pm 5,74$ IU.

Triterfenoid safonin pada pegagan menyebabkan aktivasi makrofag yang diikuti dengan diferensiasi dan proliferasi (Mamtha *et al.*, 2004). Proses diferensiasi dan proliferasi ini menyebabkan peningkatan jumlah makrofag yang beredar di dalam tubuh (Abbas dan Lichtman, 2003). Adanya infeksi *S. typhi* pada hewan yang makrofagnya telah teraktivasi menyebabkan makrofag bergerak ke arah sumber infeksi. Makrofag yang sudah sampai di tempat infeksi akan melakukan fagositosis terhadap *S. typhi*. Selanjutnya kuman diproses di dalam fagolisosom menjadi fragmen-fragmen peptida. Fragmen peptida yang terbentuk diikat oleh *major histocompatibility complex* (MHC) dan dibawa ke permukaan sel untuk disajikan ke sel-T. Selama fagositosis dan pemrosesan antigen, makrofag mengeluarkan beberapa sekresi, salah satunya adalah IL-6.

Sel-T *helper* melalui *T-cell receptor* (TCR) mengenali antigen *S. typhi* yang disajikan oleh makrofag. Ligan antara kompleks antigen-MHC dengan CD3-TCR membangkitkan aktivitas inositol pada membran sel-T menjadi inositol trifosfat dan senyawa gliserol. Inositol trifosfat akan meningkatkan ion kalsium (Ca^{++}) dalam sitoplasma, sedangkan diasilgliserol akan mengaktifkan enzim proteinkinase-C. Keduanya merupakan sinyal untuk mengaktifkan sel-T. Aktivasi sel-T dapat diamati dengan disekresikannya IL-2. Senyawa IL-2 ini berguna untuk aktivasi sel-B menjadi sel plasma (Abbas dan Lichtman, 2003).

Senyawa IL-6 bersama dengan IL-2 yang dihasilkan oleh set-T *helper* akan mendorong diferensiasi dan proliferasi limfosit-B. Diferensiasi limfosit-B sangat penting untuk tahap perkembangan dalam mengatur jumlah immunoglobulin yang dihasilkan. Aktivasi sel-B tidak hanya disebabkan oleh IL-6, tetapi juga dibantu oleh IL-4 yang berfungsi mengaktifkan sel-B yang sedang istirahat dan IL-5 yang berfungsi memacu pertumbuhan sel-B yang sudah aktif. Keempat interleukin ini akan memacu sel-B untuk menghasilkan antibodi (Roitt *et al.*, 1993).

Hasil analisis LSD menunjukkan bahwa dosis pegagan meningkatkan titer antibodi mencit terhadap *S. typhi*. Titer antibodi tertinggi ditunjukkan pada dosis pegagan 500 mg/kg BB ($73,62 \pm 16,62$ IU), lebih tinggi secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dosis yang lainnya. Titer antibodi pada dosis 250 mg/kg BB ($55,56 \pm 20,35$ IU) lebih tinggi secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dosis 125 mg/kg BB atau kontrol. Dosis 125 mg/kg BB ($41,48 \pm 14,98$ IU) lebih tinggi secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan kontrol ($25,73 \pm 14,55$ IU). Hasil selengkapnya disajikan pada Tabel 1.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa mencit yang diberikan pegagan menunjukkan titer antibodi yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak diberikan pegagan. Pemberian pegagan dengan dosis 500 mg/kg BB dan interval waktu pengamatan empat minggu mampu menghasilkan titer antibodi tertinggi ($94,04 \pm 3,48$ IU). Meningkatnya dosis pegagan diikuti dengan meningkatkan titer antibodi.

Penelitian tentang pegagan kaitannya terhadap antibodi kuman spesifik belum pernah

Tabel 1. Analisis perbedaan titer antibodi mencit terhadap *S. typhi* mencit pada masing-masing kelompok perlakuan

Kelompok	Kelompok	Selisih Rataan	Signifikansi
Kontrol	125 mg/kg BB	-15,75(*)	0,00
	250 mg/kg BB	-29,83(*)	0,00
	500 mg/kg BB	-47,93(*)	0,00
125 mg/kg BB	250 mg/kg BB	-14,08(*)	0,00
	500 mg/kg BB	-32,14(*)	0,00
250 mg/kg BB	500 mg/kg BB	-18,07(*)	0,00

Tabel 2. Analisis perbedaan titer antibodi mencit terhadap *S. typhi* pada interval waktu pengamatan

Waktu Pengamatan	Waktu Pengamatan	Selisih Rataan	Signifikansi
1 hari	2 minggu	-12,4149(*)	0,00
	4 minggu	-35,2691(*)	0,00
2 minggu	4 minggu	-22,8542(*)	0,00

dilaporkan, namun demikian penelitian pegagan dalam meningkatkan titer antibodi terhadap non bakterial sudah pernah dilaporkan. Fulzele *et al.*, (2002) melaporkan bahwa pemberian *C. asiatica* yang terdapat pada *Ashtamangal ghrita* (AG) mampu meningkatkan titer antibodi. Tikus diberikan AG dengan dosis 150 dan 300 mg/kg BB selama 14 hari, lalu diimunisasi dengan antigen sel darah merah domba atau *sheep red blood cell* (SRBC) sebanyak 0.5×10^9 per ekor secara intra peritoneal, hasilnya menunjukkan bahwa dengan dosis 300 mg/kg BB titer antibodi terhadap SRBC meningkat secara bermakna dibandingkan dengan dosis 150 mg/kg BB.

Hasil yang hampir sama juga dilaporkan oleh Jayathirtha dan Mishra (2004), pegagan mampu meningkatkan titer antibodi terhadap antigen SRBC. Mencit diberikan pegagan dengan dosis 0, 100, 200, 300, dan 500 mg/kg BB secara oral selama dua minggu, dan selanjutnya disuntikkan antigen SRBC secara intraperitoneal. Hasilnya menunjukkan bahwa makin meningkat dosis pegagan, maka titer antibodi yang dihasilkan makin meningkat secara bermakna.

Pada Tabel 2 disajikan bahwa makin lama waktu pengamatan maka makin tinggi titer antibodi mencit terhadap *S. typhi*. Titer antibodi tertinggi didapatkan pada minggu keempat setelah infeksi kuman ($68,47 \pm 21,79$ IU), lebih tinggi secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan interval minggu kedua atau hari

pertama infeksi kuman. Titer antibodi pada minggu kedua ($45,62 \pm 19,52$ IU) lebih tinggi secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan hari pertama infeksi kuman ($33,20 \pm 16,90$ IU). Infeksi *S. typhi* pada saat makrofag sedang teraktivasi, menyebabkan fagositosis berjalan sempurna, sehingga fragmen antigen dari *S. typhi* disajikan keluar sel bersama protein MHC kelas II dalam bentuk kompleks peptida MHC. Kompleks peptida MHC ini akan berinteraksi dengan sel-T *helper* melalui reseptornya. Selanjutnya sel T *helper* menjadi aktif dan mensekresikan IL-2. Sekresi IL-2 oleh sel-T *helper* akan berakibat pada aktivasi sel-B. Aktivasi sel-B ditandai dengan proliferasi dan diferensiasi sel-B menjadi sel plasma secara berulang-ulang, sehingga terjadi peningkatan sel plasma di dalam tubuh. Selanjutnya sel plasma ini akan menghasilkan antibodi terhadap bahan asing tersebut (Dostatni *et al.*, 1996; Beckerman dan Dudley, 2001; Baratawidjaja, 2006).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak pegagan meningkatkan titer antibodi mencit terhadap *S. typhi*. Titer antibodi tertinggi ditemukan sangat meningkat pada minggu ke empat.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan bahwa sebelum pegagan dipakai sebagai obat herbal alternatif dalam mencegah *salmonellosis* maka perlu diteliti lebih lanjut tentang waktu paruh dan lama pemberiannya agar efektivitasnya dapat maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH. 2003. *Cellular and Molecular Immunology*. 4th ed. WB Saunders Company Saunders, Philadelphia. Pp. 19-347.
- Antony B, Santhakumari G, Merina B, Sheeba V, Mukkadan J. 2006. Hepatoprotective effect of *Centella asiatica* (L) I carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. November-December : 772-776.
- Baratawidjaja KG. 2006. *Imunologi Vaskuler dalam Imunologi Dasar* ed. 7. Jakarta. BP FKUI. hal: 384-428.
- Beckerman KP, Dudley DJ. 2001. Reproduction & the Immune System. In *Medical Immunology a Lange Medical Book*. 10th ed. Philadelphia, Mc GrawHill. Pp: 563-67.
- Chanana V, Ray P, Rishi DB, Rishi P. 2007. Reactive nitrogen intermediates and monokines induce caspase-3 mediated macrophage apoptosis by anaerobically stressed *Salmonella typhi*. *Clin Exp Immunol* 150(2) : 368-74.
- Dostatni R, Berthold S, Biermann. *Interleukin-6 in Intensive care Medicine*. Diagnostic Products Corporation 1996. p: 1-15.
- Fulzele SV, Bhurchandi, PM, Kanoje VM, Joshi SB, Dorle AK. 2002. Immunostimulant activity of *Ashtamangal ghrita* in rats. *Indian Journal of Pharmacology* 34 : 194-197.
- Govindan G, Sambandan TG, Govindan M, Sinskey A, Vanessendelft J, Adenan I, Rha CK. 2007. A Bioactive polyacetylene compound isolated from *Centella asiatica*. Supporting information available on line at <http://www.thieme-connect.de/ejournals/toc/plantamedica>. Revised April 9, 2007. Accepted April 13, 2007.
- Ito Y, Pandey P, Place A, Sporn MB, GriBBle GW, Honda T, Kharbanda S, Kufe D. 2000. The Novel triterpenoid 2-cyano-3,12-dioxolean-1,9-dien-28-oic acid induces apoptosis of human myeloid leukemia cells by a caspase-8-dependent mechanism. *Cell Growth & Differentiation* 11 : 261-267.
- Jayathirtha MG, Mishra SH. 2004. Preliminary immunomodulatory activities of methanol extracts of *Eclipta alba* and *Centella asiatica*. *Phytomedicine* 11 : 361-365. (<http://www.elsevier.de/phymed>).
- Mamtha B, Kavitha K, Srinivasan KK, Shivananda PG. 2004. An in vitro study of the effect of *Centella asiatica* (Indian pennywort) on enteric pathogens. *Indian J Pharmacol* 36(1) : 41-44.
- Musnelina L, Afdhal AF, Gani A, Andayani P. 2004. Pola pemberian antibiotika pengobatan demam tifoid anak di Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001 – 2002. *Makara Kesehatan* 8(1) : 27-31.
- Naucleur C. 2002. Degranulation in macrophages and other leukocytes: Regulation by calcium, phosphoinositide 3-kinase, and protein kinase C. Akademisk Avhandling. Printed by Bloms Lund Tryckeri AB, Lund, Sweden. <http://www.lub.lu.se/luft/diss/med617.pdf>. Accepted Feb 1:2008.
- Noss EH, Pai RK, Sellati TJ, Radolf JD, Belisle J, Golenbock DT, Boom WH, Harding CV. 2001. Toll-like Receptor 2-dependent inhibition of macrophage class II MHC expression and antigen processing by 19-kDa lipoprotein of *M. tuberculosis*. *J Immunol* 167(2) : 910-918.
- Papanicolaou DA. 2000. Interleukin-6 : Endocrine cytokine. *Journal Clinical Endocrinology & Metabolism* 85(3) : 1331-1333.
- Roitt IM, Brostoff J, Male DK. 1993. *Immunology*. 3rd Edition. Mosby. pp. 1.3-22.8. Kota trbt ? Halaman ?
- Sampurna P. 2007. Metodologi Ilmiah. Rancangan Percobaan. <http://staff.unud.ac.id/~sampurna/rancob/>. Published on 04 Dec 2007. Hal 26-30
- Santander J, Espinoza JC, Campano MS, Robeson J. 2003. Infection of *Caenorhabditis elegans* by *Salmonella typhi* Ty2. *Electronic Journal of Biotechnology* 6(2) : 148-152.
- Stite DP. 1991. *Basic & Clinical Immunology*. 7th ed. California. A Lange Medical Publication. Pp. 723-741.
- Supali. 2002. Studi Karier *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi* pada pedagang es keliling dan intervensi penanggulangannya. *Warta Litbang Kesehatan* 5 : 3-4.
- Tizard. 2000. *Veterinary Immunology*. An Introduction. 6th ed. Philadelphia. WB Saundres Co. Pp. 26-34.
- View EU (ELISA Unit). 2010. http://www.affinitech.net/help/aviahelp/View_EU_ELISA_Unit_.htm. Tanggal 14 September 2010.