

## EFEKTIVITAS PEMBERIAN KOMBINASI PRODUK HERBAL DAN ANTIBIOTIK TERHADAP INFEKSI *SALMONELLA TYPHIMURIUM* PADA MENCIT *BALB/C*

Yanuarita Tursinawati<sup>(1)</sup>, Edi Dharmana<sup>(2)</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang.

[yanuarita.tursinawati11@gmail.com](mailto:yanuarita.tursinawati11@gmail.com)

<sup>2</sup> Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

### Abstract

*Background* : Medicinal herbs contained in Tolak Angin Cair (TAC), a Standardized Herbal Medicine has immunostimulant and antimicrobial effect. This research is aimed to examine the effectiveness of TAC, a herbal product and chloramphenicol, an antibiotic combination against *S.typhimurium* which is represented by bacterial colony count in Balb/c mice's liver. *Methods* : The experimental study with post test only control group design used 20 Balb/c female mice, randomly divided into 4 groups: control (aquades group), P1 (chloramphenicol group), P2 (Tolak Angin Cair group), and P3 (combination of Tolak Angin Cair-chloramphenicol group). All groups were infected by  $10^5$  CFU of *S. thypimurium* at 1st day and given the treatment until 5<sup>th</sup> day. Data were analyzed by Mann-Whitney test (CI 95% and significance value  $p < 0,05$ ). *Results*: The number of bacterial colony was P2 ( $50.927.000 \pm 72.446.458,2$  cfu/gram), K ( $10.583.000 \pm 14.623.899,8$  cfu/gram), P1 and P3 (0 cfu/gram). There was significantly decreasing of bacterial colony between P3 to K ( $p = 0,005$ ). There was no significantly difference between P1 and P3 ( $p = 1$ ). *Conclusions*: Herbal product and antibiotic combination can decrease the bacterial colony in Balb/c mice's liver which infected by *S. thypimurium*. These combination is as effective as a single administration of chloramphenicol. Single administration of herbal product fail to eliminate bacteria.

**Keywords:** herbal product, antibiotic, Tolak Angin Cair, chloramphenicol, *Salmonella typhimurium*

### 1. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella sp* dan masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia adalah demam tifoid. Angka kejadian demam tifoid di Indonesia pertahun sebesar 810 per 100.000 penduduk di perkotaan, dengan angka kematian rerata nasional sekitar 2-3,5 %.<sup>1</sup> Infeksi *Salmonella typhi* ini menyebabkan bakteremia, sehingga semua alat tubuh dapat terkena tak terkecuali hepar, terlebih hepar merupakan organ retikuloendotelial yang berperan dalam mengeliminasi kuman. Di hepar, *Salmonella* selain dapat hidup dalam sel fagosit (*sel Kupffer*), juga dapat bermultiplikasi dalam sel parenkimal nonfagosit seperti pada hepatosit. Oleh karena itu penghitungan

koloni kuman di hepar dapat dijadikan sarana diagnosa, khususnya pada hewan coba.

*Salmonella* adalah bakteri intraseluler bentuk batang gram negatif dengan struktur antigen yang imunogenik. Antigen O yang dilepas saat bakteri lisis, bersama R-core dan Lipid -A akan membentuk Lipo Polisakarida (LPS) atau endotoksin yang mampu merangsang reaksi imunologi.<sup>2,3</sup> *Salmonella* mampu mengaktifkan sistem imun seluler host yang diperankan oleh makrofag dan sel NK sebagai eksekutor imun non spesifik dan sel T sebagai mediator imun spesifik. Makrofag yang diaktivasi oleh produk mikrobial seperti LPS berperan sebagai fagosit profesional dan *Antigen Presenting Cell* (APC). Makrofag juga mampu mensekresi IL-12 yang membantu differensiasi sel T CD4+ menjadi

Th1. Sel Th1 dan sel NK akan mensekresi IFN  $\gamma$  sebagai faktor pengaktivasi makrofag sekaligus dapat meningkatkan ekspresi MHC II pada permukaan APC.<sup>4-7</sup> Th2 lebih berperan dalam imunitas humoral melalui antibodi dalam proses opsonisasi. Jadi dalam upaya menyingkirkan infeksi bakteri intraseluler seperti *Salmonella*, peran sel T sangatlah besar disamping makrofag dengan sitokin yang dihasilkannya seperti IFN  $\gamma$ .

Dalam pengobatan terhadap infeksi *Salmonella*, kloramfenikol masih merupakan terapi pilihan. Kloramfenikol bekerja dengan cara menghambat proses sintesis protein bakteri dengan dosis pemakaian 4 x 500 mg sehari selama 2-3 minggu.<sup>8</sup> Adanya laporan kejadian resistensi terhadap kloramfenikol dan efek samping obat ini yang berupa reaksi alergi kulit, gangguan saluran cerna berupa mual, muntah, diare, reaksi hematologik berbahaya seperti supresi sumsum tulang menyebabkan pemakaian kloramfenikol perlu dibatasi.<sup>8-10</sup> Produk herbal sebagai imunostimulan tampaknya mulai mendapat tempat dalam kombinasi bersama dengan terapi utama dalam mempercepat proses penyembuhan terhadap suatu infeksi bakteri. Salah satu produk Obat Herbal Terstandar yang beredar di pasaran adalah Tolak Angin Cair (TAC) Sidomuncul. TAC mengandung multikomponen tanaman obat berkhasiat, seperti *Amomi fructus* (kapulogo), *Foeniculli fructus* (minyak adas), *Isorae fructus* (kayu ulet), *Myristicae semen* (pala), *Burmani cortex* (manis jangan), *Centelale herba* (pegagan), *Parkiae semen* (kedawung), *Oryza sativa* (beras), *Caryophilli folium* (daun cengkeh), *Zingiberis rhizoma* (Jahe), *Menthae arvensis herba* (daun mint), *Usnae Thallus* (kayu angin) dan *Mel depuratum* (madu) yang awalnya ditujukan untuk pengobatan flu ringan (common cold). Kandungan Tolak Angin Cair tersebut diyakini memiliki sifat imunomodulator dan antimikroba. Penelitian kerjasama oleh Fakultas Kedokteran UNDIP dengan PT. Sidomuncul pada manusia sehat terbukti bahwa Tolak Angin Cair dapat meningkatkan jumlah sel T darah tepi sebanyak 10%.<sup>11</sup> Peningkatan tersebut sudah sangat berarti

karena prosentase normal limfosit T pada darah tepi berkisar antara 70 – 75 %. Selain itu didapatkan peningkatan rasio IFN $\gamma$ / IL4, kenaikan produksi sitokintipe 1 (IFN  $\gamma$ , IL-2, IL-12, TNF) pada pemakaian selama 7 hari dengan dosis 2 kali sehari, @15 ml. *Zingiberis rhizoma* (Jahe) dan madu dalam TAC terbukti memiliki efek antimikroba baik terhadap bakteri gram positif atau gram negatif, misalnya terhadap *Staphylococcus aureus*, *S.pyogenes* and *Pseudomonas aeruginosa*<sup>12-15</sup> Oleh karena itu, Tolak Angin Cair diharapkan dapat berperan sebagai imunostimulan dan antimikroba dalam kombinasi pengobatan demam tifoid bersama dengan kloramfenikol, sehingga dapat memperpendek masa sakit, dan pemakaian kloramfenikol dapat dipersingkat, sehingga nantinya efek samping penggunaan obat dan kejadian resistensi dapat ditekan.

Berdasarkan fakta tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas pemberian kombinasi produk herbal TAC dan antibiotik kloramfenikol terhadap infeksi *S. thypimurium* yang dilihat dengan hitung koloni kuman pada hepar mencit *Balb/c*. Penelitian ini menggunakan mencit *Balb/c* (terpilih bagi penelitian imunologi dan sensitif terhadap infeksi *Salmonella*) yang diinfeksi *S. typhimurium* dimana memberikan gambaran yang sama pada manusia yang terinfeksi oleh *S. typhi*. Hal ini mengingat bahwa tidak etis untuk melakukan percobaan pada manusia.

## 2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *The Post test-Only Control Group* menggunakan hewan coba mencit strain *Balb/c*. Duapuluh ekor mencit *Balb/c* yang memenuhi kriteria inklusi berupa mencit betina, berat badan 20-40 gr, berumur 6 minggu dan tidak terdapat kelainan anatomis diadaptasikan selama 7 hari dengan pemberian pakan dan minum secara *ad libitum*. Mencit dibagi secara acak menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor mencit, yaitu kelompok K (kontrol), kelompok P1 diberi perlakuan pemberian Kloramfenikol tunggal,

kelompok P2 (pemberian Tolak Angin Cair tunggal) dan kelompok P3 (pemberian kombinasi Tolak Angin Cair dan kloramfenikol). Pada hari pertama seluruh kelompok diinfeksi *Salmonella typhimurium* 10<sup>5</sup> CFU intraperitoneal. Pada hari pertama sampai hari ke-5 kelompok K diberi air 0,2 ml, kelompok P1 diberi suspensi kloramfenikol 0,21 ml satu kali sehari, kelompok P2 diberi Tolak Angin Cair 0,08 ml satu kali sehari dan kelompok P3 diberi kombinasi suspensi Tolak Angin Cair 0,08 ml -kloramfenikol 0,21 ml satu kali sehari. Pada hari ke-6 seluruh mencit dalam kondisi hidup, kemudian diterminasi dan diambil organ hepar secara aseptis. Setiap organ dari masing-masing mencit tersebut ditimbang dahulu dengan timbangan digital. Kemudian organ hepar dihancurkan dengan mortir setelah penambahan 1 ml NaCl fisiologis steril dan dilakukan pengenceran bertingkat dari 10<sup>-1</sup> sampai 10<sup>-6</sup>. Dari setiap pengenceran diinokulasi pada media *Salmonella-Shigella (SS)* agar sebanyak 0,1 ml. Perhitungan koloni kuman dilakukan setelah diinkubasi dengan suhu 37° C selama 24 jam.

Data yang diperoleh adalah jumlah koloni kuman yang tumbuh dalam media SS agar. Perhitungan dinyatakan dalam CFU/gram jaringan, sebagai jumlah koloni *S. typhimurium* setiap satu gram jaringan hepar. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian Tolak Angin Cair, kloramfenikol dan kombinasi Tolak Angin Cair dan kloramfenikol yang merupakan skala nominal. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah hasil hitung jumlah koloni kuman pada hepar yang berskala rasio. Data diuji normalitasnya dengan *Saphiro-Wilk*, karena distribusi data yang didapat tidak normal maka dilakukan uji nonparametrik *Kruskal Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Pengolahan data dilakukan dengan bantuan komputer menggunakan program komputer *SPSS* dengan batasan signifikansi  $p < 0,05$  dan CI 95 %.

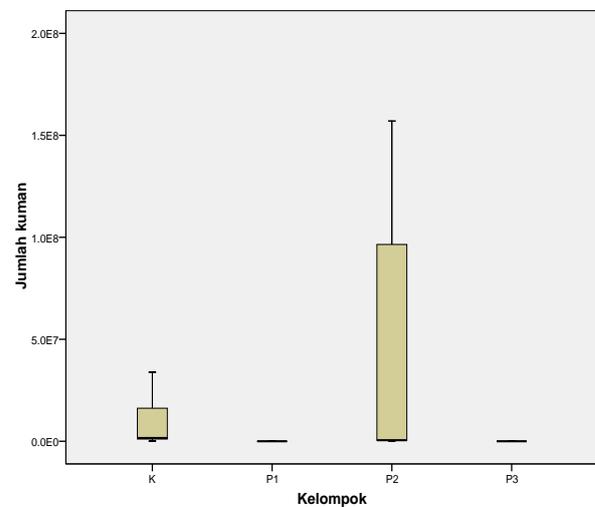
### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Hasil

Pertumbuhan kuman pada kultur organ hepar adalah penghitungan jumlah koloni kuman hepar yang dinyatakan dalam cfu/gram jaringan. Data hitung kuman terlihat pada lampiran dan hasil analisis statistik terlihat pada tabel dan gambar:

Tabel 1. Hasil Analisis Hitung Kuman pada Tiap Kelompok (dalam Cfu/ Gram Jaringan)

Kelompok	N	Mean $\pm$ SD	Median	Minimum	Maksimum
K	5	10.583.000 $\pm$ 14.623.899,8	1.600.000	115.000	33.900.000
P1	5	0	0	0	0
P2	5	50.927.000 $\pm$ 72.446.458,2	517.000	158.000	200.000.000
P3	5	0	0	0	0



Gambar 1. Grafik *Boxplot* hitung kuman

Pada tabel 1 terlihat bahwa rerata hitung kuman organ hepar tertinggi terdapat pada kelompok P2, yaitu 50.927.000 $\pm$ 72.446.458,2 cfu/gram, diikuti oleh kelompok K (10.583.000 $\pm$ 14.623.899,8 cfu/gram), sedangkan pada kelompok P1 dan P3 tidak didapatkan pertumbuhan koloni. Pada grafik *bloxplot* menunjukkan sebaran data hitung koloni kuman tiap kelompok tidak normal. Terlihat penurunan hitung kuman bila kita bandingkan antara kontrol dan P1, kontrol dan P3, namun terjadi

kenaikan jumlah kuman antara K dan P2. Hitung jumlah koloni kuman *S. typhimurium* pada media *Salmonella Shigella* agar dari setiap perlakuan terlihat pada gambar di bawah ini:



a. Kontrol (K)



b. Kloramfenikol (P1)



c. Tolak Angin Cair (P2)



d. Kombinasi (P3)

Gambar 2. Hasil kultur kuman pada pengenceran  $10^5$  tiap kelompok

Berdasarkan uji hipotesis non parametrik *Kruskal Wallis* didapatkan hasil  $p=0,001$ , memperlihatkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok. Selanjutnya

dengan uji *Mann Whitney* didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok P1 (kloramfenikol) dengan kelompok kontrol ( $p=0,005$ ), kelompok P3 (Tolak Angin Cair-kloramfenikol) dengan K ( $P=0,005$ ), kelompok P1 dengan kelompok P2 (Tolak Angin Cair) serta antara kelompok P3 dengan P2 (tabel 2). Tidak ada perbedaan yang bermakna bila membandingkan kelompok kontrol dengan P2 ( $p=0,917$ ), dan antara kelompok P1 dengan P3 ( $p=1$ ).

Tabel 2 . Hasil *p* Uji *Mann Whitney* antar Kelompok

Kelompok	K	P1	P2	P3
K	-	0,005	0,917	0,005
P1	0,005	-	0,005	1
P2	0,917	0,005	-	0,005
P3	0,005	1	0,005	-

### Pembahasan

Pada penelitian ini, kloramfenikol yang bekerja sebagai antibiotik utama dengan cara menghambat kerja enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator dalam proses sintesis protein bakteri,<sup>8</sup> dan Tolak Angin Cair sebagai imunostimulan dalam meningkatkan imunitas seluler dan antimikroba dalam melawan infeksi *Salmonella* efektif dalam menurunkan jumlah koloni kuman pada mencit *Balb/c* yang diinfeksi *S.typhimurium*. Tanaman tradisional telah banyak diteliti memiliki efek imunomodulator baik yang bersifat sebagai imunostimulan yang memacu respon imun misalnya *Echinacea sp* atau sebagai immunosupresan yang mensupresi respon imun misalnya *Curcuma sp*.<sup>16,17</sup> Sebagai imunomodulator, ekstrak tanaman tradisional mempengaruhi lebih dari satu jenis sitokin. Sitokin yang paling banyak diteliti dalam kaitannya dalam efek imunomodulator adalah IL 1, IL 6, TNF dan IFN.<sup>18</sup> Tolak Angin Cair mengandung multikomponen tanaman obat yang memiliki sifat imunomodulator dan antimikroba. *Zingiberis rhizoma* (Jahe) dan madu dalam TAC terbukti menstimulasi produksi IL-1 dan IL 6 dan keduanya memiliki efek antimikroba baik terhadap bakteri gram positif atau gram negatif.<sup>12-15</sup> Jahe memiliki kandungan

saponin, alkanoid dan flavonoid yang bersifat antimikroba dan antifungi, pemakaian bersama dengan madu menunjukkan khasiat yang lebih dibanding dengan pemberian tunggal.<sup>19</sup> Penelitian oleh Besung, 2011 membuktikan bahwa *Centella* (pegagan) dapat meningkatkan kapasitas fagosit makrofag peritoneum mencit yang diinfeksi *S.typhi*.<sup>20</sup> Kandungan lain dalam TAC seperti *Amomi fructus* (kapulogo) juga terbukti memiliki aktivitas antibakteri seperti yang dilaporkan oleh Utami, 2013.<sup>21</sup> Penurunan jumlah rata-rata koloni kuman pada kelompok kombinasi produk herbal dan antibiotik ini membuktikan adanya efek sinergi dari keduanya. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Kamatou et al, 2006 yang menyebutkan bahwa suatu tanaman obat yang memiliki khasiat sebagai antimikroba jika dikombinasikan dengan obat standar tertentu akan meningkatkan efek obat tersebut.<sup>22,23</sup> Penelitian oleh Sebiomo et al, 2011 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) efektif dalam melawan *Staphilococcus aureus* dan *S.pyogenes*, begitu juga dengan pemberian kloramfenikol, ampicilin dan tetrasiklin sehingga ekstrak jahe dapat diberikan secara kombinasi dengan antibiotik tersebut karena akan memberikan efek sinergis dalam mengeliminasi bakteri.<sup>24</sup> TAC mengandung bermacam-macam tanaman obat, sehingga belum dapat dipastikan komponen mana yang berperan dominan dalam memberikan efek sinergis tersebut. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan yang meneliti kandungan senyawa TAC yang dominan berperan dalam proses dan dapat dilakukan penelitian kombinasi TAC ini dengan obat antibiotik standar lainnya.

Efektifitas kombinasi Tolak Angin Cair – kloramfenikol kemungkinan lebih diperankan oleh kloramfenikol sebagai antibiotik utama yang membunuh bakteri, hal ini terbukti dari penurunan jumlah kuman yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kloramfenikol tapi tidak demikian antara kelompok kontrol dengan Tolak Angin Cair tunggal. Hal ini mungkin dapat disebabkan karena efek ganda dari (NO)

yang dihasilkan oleh makrofag sebagai respon imun terhadap infeksi *Salmonella*. *Salmonella* memiliki kemampuan mencegah fusi fagosom-lisosom makrofag, mampu menetralkan enzim proteolitik, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan memiliki dinding sel yang tahan terhadap lisosim serta dapat keluar dari fagosom.<sup>10,11</sup> Dengan kemampuan *Salmonella* menghindarkan diri dari proses eliminasi makrofag, peran Tolak Angin Cair diharapkan dapat membantu meningkatkan aktifitas makrofag melalui peningkatan produksi IFN  $\gamma$  yang berperan sebagai faktor pengaktivasi.<sup>25-27</sup> IFN  $\gamma$  juga mampu meningkatkan produksi respiratory burst seperti *Reactive Oxygen Intermediate* (ROI) dan *Nitric Oxide* (NO) yang dihasilkan oleh makrofag dan berperan dalam mengeliminasi bakteri intraseluler seperti *Salmonella*.<sup>5</sup> Selain makrofag, sel NK juga mampu menghasilkan IFN  $\gamma$  yang merangsang makrofag dalam memproduksi NO. Dalam mengeliminasi infeksi *Salmonella*, NO tidak dapat bekerja sendiri dan memerlukan reaksi dengan superoksida membentuk peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>) ataupun dengan unsur thiol.<sup>28</sup> Penelitian oleh Budhysulistyarini, 2010 pada hewan coba yang menunjukkan bahwa pemberian Tolak Angin Anak Cair (TAAC) yang mengandung komponen yang sama dengan Tolak Angin Cair tetapi dengan kadar yang lebih rendah, menyebabkan peningkatan kadar NO pada dosis tertentu.<sup>29</sup> Penelitian pada tikus yang diinfeksi *Salmonella* menunjukkan bahwa produksi NO memiliki efek biologi ganda, yakni membantu dalam pertahanan terhadap infeksi namun sebaliknya memiliki efek immunosupresi. Hal ini menjelaskan bahwa selain memiliki efek protektif, NO juga mampu mensupresi proliferasi limfosit. Efek immunosupresi dari NO ini disinyalir menjadi *side effect* dari aktivasi makrofag. Kenaikan produksi NO oleh makrofag terjadi antara periode hari ke-3 sampai hari ke-7 dengan produksi maksimal pada hari ke-5 pasca infeksi.<sup>18</sup> Penelitian oleh Eisenstein et al, 1998 menemukan bahwa pada hari ke 5 pasca injeksi bakteri *Samonella* pada percobaan didapatkan penurunan fungsi limfosit.<sup>30</sup>

Penelitian lain oleh menunjukkan bahwa efek immunosupresi ini bersifat sementara dan bertahan sampai 3 minggu post infeksi.<sup>31</sup> Pada percobaan ini, mencit diterminasi pada hari ke-6 pasca infeksi dimana terjadi peningkatan produksi NO dan penurunan fungsi limfosit. Kondisi immunosupresi inilah yang dapat menjadi kemungkinan penyebab tingginya jumlah koloni pada kelompok Tolak Angin Cair disaat terjadi serangan infeksi bakteri *Salmonella*. Untuk membuktikan penyebab pasti diperlukan penelitian lanjut yang menghitung laju produksi NO dan perubahan fungsi limfosit tiap satuan waktu.

#### 4. Simpulan

Pemberian kombinasi produk herbal TAC-antibiotik kloramfenikol dapat menurunkan jumlah koloni kuman pada mencit *Balb/c* yang diinfeksi *S. thypimurium*. Kombinasi tersebut sama efektifnya dengan pemberian kloramfenikol tunggal. Pemberian tunggal produk herbal ini gagal dalam mengeliminasi bakteri.

#### 5. Referensi

- 1 Handojo Indra. 2004. Imunasai terapan pada beberapa penyakit infeksi. Airlangga University Press. Surabaya Hal: 1- 5.
- 2 Nester EW, Robert E,Pearsall. 1998. Microbiology a human perspective. Mc Graw Hill. Boston-USA.
- 3 Le TP, Hoffman SL. 1999. Typhoid fever. In : Guerrant RL, Walke DH, Weller PF. Tropical infectious diseases principles, pathogen & practice. Churchill Livingstone. New York-USA.Hal:277-95.
- 4 Roitt Ivan. 2004. Essensial immunology, 8<sup>th</sup> ed. Widya Medika. Jakarta. Hal : 243-8.
- 5 Gordon MA, Jack DL, Dockrell DH, Lee ME, Read RC. 2005. Gamma interferon enhance internalization and early nonoxidative killing of *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* by human makrofag & modifies cytokine response. Infect Immun.73 (6) : 3445-52
- 6 Fidan I, Yesilyurt G, Gurelick FC, Erdal B, Imir T. 2008. Effect of recombinant interferon  $\gamma$  on cytokine secretion from monocyte derived macrofag infected with *S.typhi*. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 31(6): 467-75.
- 7 Levinson W, Jawetz E. 2003. Medical microbiology & immunology, 7<sup>th</sup> ed. : Mc Graw Hill. Boston-USA.Hal: 365-8.
- 8 Katzung BG. 2001. Alange medical book basic and clinical pharmacology, 8<sup>th</sup> ed Mc Graw Hill. Boston-USA.Hal: 774-6.
- 9 Nogrady N, Gado I, PZ Fekete, J Paszti. 2005. Chloramphenicol resistance genes in *Salmonella enterica* subsp.*enterica* serovar Typhimurium isolated from human and animal sources in Hungary. Vet Med-Czech. 50:164-70.
- 10 Lee Kyungwon, Dongeon Yong, Jong Hwa Yum, Young Sik Lim, Hyun Sook Kim, Bok Kwon Lee, Yunsop Chong. 2004. Emergence of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Typhi in Korea Antimicrob. Agents Chemother. 48 (11): 4130-5.
- 11 Dharmana Edi, Susilaningsih N. 2007. Pengaruh pemberian Tolak Angin Cair terhadap jumlah sel T, kadar IFN  $\gamma$  dan IL-4 serta fungsi hati dan ginjal orang sehat.Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- 12 Tan BKH, J Vanitha. 2004. Immunomodulatory and antimicrobia of some traditional chinese medicinal herbs : A review. Curr Med Chem. 11:1423-30.
- 13 Hori Y,Miura T,Hirai Y,Fukumura M,Nemoto Y,Toriizuka K et al. 2003. Pharmacognostic studies on ginger and related drugs-part 1: five sulfonated copounds from *Zingiberis* rhizom (Shokyo). Phytochem.62:613-7.

- 14 Das Sumit, Ripunjoy B, Nishant N. 2014. A review on immun modulatory effect of some traditional medicinal herbs. JPCBS.2(1):33-42.
- 15 Nikaein Donya, Ali RZ, Zahra M, Hojjatollah S, Ahmad E, Hassan G et al. 2014. Effect of honey as an immunomodulator against invasive aspergillosis in BALB/c mice. J Apicult Res.53 (1): 84-90.
- 16 S Gajahlaksmhi, Vijayalakshmi S, V Devirajeswari. 2012. Echinacea purpurea- A potent immunostimulant. Int J Pharm Sci Rec Res. 14(2):47-52.
- 17 Amirghofran. 2012. Herbal medicine for immunosuppression. Iran J Allergy Asthma immunol.11(2):111-9.
- 18 Spelman K, JJ Burn,Douglas N, Nasha W, Steve O, Mark T. 2006. Modulation of cytokine expression by traditional medicine “ a review of herbal immunomodulators. Altern Med Rev.11(2):128-50.
- 19 Omoya FO, FC Akharaiyi. 2012. Mixture of honey and ginger extract for antibacterial assessment on some clinical isolate. Int Res J of Pharmaceuticals. 2(5):127-32.
- 20 Besung I Nengah Karta. 2011. Pengaruh ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) dalam meningkatkan kapasitas fagosit makrofag peritoneum mencit terhadap salmonella typhi. Bulletin Veteriner Udayana. 3(2):71-8.
- 21 Utami Dian Tria. 2013. Aktivitas antibakteri ekstrak buah kapulaga (*Amomum compacteum*) Soland ex Maton) terhadap *Esvherecia coli* dan *Streotococcus pyogenes* .Skripsi. Universitas Atma Jaya, Yogyakarta.
- 22 Kamatou GP, Van Zyl RL, Van Vuurwn, Viljoen AM. 2006. Chemical composition ,leaf trichome type and biological activities of the essentials oils four related salvia species indigenous to southern Africa. J Ess Oil Res.18:72-9.
- 23 Arima H,Hitoshi A, Gen ichi D.2002. Rutin enhanced antibacterial avtvutues of flavonoids against *Bacillus cereus* and *Samlonella enteridis*. Biosci Biotechnol Biochem.5595:1009-14.
- 24 Sebiomo A, Awofodu AD, Awosanya AO, Awotona FE, Ajayi AJ. 2011.Comparative studies of antibacterial of some antibiotics and ginger (*Zingiber officinale*) on two pathogenic bacteria.J Microbiol Antimicrob. 3(1): 18-22.
- 25 Kresno SB. 2001. Immunologi : Diagnosis dan prosedur laboratorium, 4<sup>th</sup> ed. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta
- 26 Baratawidjaya KG. 2006 Imunologi dasar, 7<sup>th</sup> ed . Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia .Jakarta.Hal: 309-12.
- 27 Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. 1997. Cellular and mollecular immunolgy, 3<sup>th</sup> ed. WB Saunders co. Philadelphia.Hal: 342-9.
- 28 De Groote M. A, Granger D, XuY, Campbell G, Prince R, Fang F. C. 1995. Genetic and redox determinants of nitric oxide cytotoxicity in a *Salmonella typhimurium* model. Proc. Natl. Acad. Sci. 92:6399–6403.
- 29 Budhysulistyarini DY.2010.Pengaruh pemberian Tolak Angin Anak Cair terhadap kadar Nitrit Oksida (NO) pada mencit Swiss. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- 30 Eisenstein T. K., Meissler J. J. Jr., Miller S. I., Stocker B. A. D. 1998. Immunosuppression and nitric oxide production induced by parenteral live *Salmonella* vaccines do not correlate with protective capacity: a *phoP::Tn10* mutant does not suppress but does protect. Vaccine.16:24–32.
- 31 Lee JC,Gibson CW, Einstein TK. 1985. Macrophage-mediated mitogenic suppression induced in mice of the C3H lineage by a vaccine strain of *Salmonella typhimurium*. Cell Immunol.91:75-91.