



## Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*) terhadap Jumlah Sel Makrofag Peritoneal pada Mencit yang Diinduksi Vaksin BCG

### *Immunomodulator of Ethanol Extracts of The Leaves Azadirachta indica Against Macrophage Peritoneal Cell in Mice Induced The Vaccine BCG*

Yogi Khoirul Abror<sup>1a</sup>, Evy Diah Woelansari<sup>2b\*</sup>, Suhariyadi<sup>3c</sup>

<sup>1,2,3</sup> Jurusan Analis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Surabaya, Indonesia

<sup>a</sup> Email address: yogiabrор@gmail.com

<sup>b</sup> Email address: evydiahw@yahoo.com

<sup>c</sup> Email address: yadi\_cmd@yahoo.co.id

#### HIGHLIGHTS

- Leaf Mimba (*Azadirachta indica*) as immunomodulatory material for Tuberculosis patients

#### ARTICLE INFO

##### Article history

Received date : December 18<sup>th</sup>, 2017

Revised date : January 08<sup>th</sup>, 2018

Accepted date : April 27<sup>th</sup>, 2018

##### Keywords:

BCG Vaccine

Neem Leaves Ethanol Extract

Peritoneal Macrophage

##### Kata Kunci:

Ekstrak Etanol Daun Mimba  
 Makrofag Peritoneal  
 Vaksin BCG

#### ABSTRACT / ABSTRAK

*This research was conducted to determine the immunomodulatory effect of ethanol extract of neem leaves (*Azadirachta indica*) to the number of peritoneal macrophages in mice wick induced by BCG vaccine. Bacillus Calmette-Guerin (BCG) vaccine contained an attenuated Mycobacterium bovis. Mycobacterium bovis belongs to the Mycobacterium Tuberculosis Complex (MTC) group that has a similar phenotype characteristic with Mycobacterium tuberculosis and similar clinical manifestations of tuberculosis. The type of the research that used in this study is laboratory experimental research with Post Test Design Design Only Control Group Design. The research was conducted at the Faculty of Veterinary Medicine of Airlangga University in July 2017 using 25 male mice divided into five groups. The dosage of ethanol extract of the neem leaves given was 200 mg / Kg BW with variation for two days, four days, and six days are given. In the result of statistical data analysis using Kruskal-walis test, it is known that the significance value  $p = 0,03$  ( $p < 0,05$ ), that means immunomodulatory of ethanol extract of neem leaves (*Azadirachta indica*) give an effect to peritoneal macrophage cell number in mice wick induced by BCG vaccine, so that neem leaves ethanol extract can be applied to tuberculosis patients.*

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek imunomodulator ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) terhadap jumlah makrofag peritoneal pada mencit yang diinduksi vaksin *Bacillus Calmette-Guerin*(BCG). Vaksin BCG adalah *Mycobacterium bovis* yang dilemahkan, termasuk dalam kelompok *Mycobacterium Tuberculosis Complex* (MTC) yang memiliki kesamaan karakteristik fenotip dengan *Mycobacterium tuberculosis* dan kesamaan manifestasi klinis tuberkulosis. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian dilakukan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga pada bulan Juli 2017 dengan menggunakan 25 ekor mencit jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok. Dosis ekstrak etanol daun mimba yang diberikan adalah 200 mg/Kg BB dengan variasi pemberian selama 2 hari, 4 hari, dan 6 hari. Berdasarkan uji *Kruskal-walis* nilai signifikansi  $p = 0,03$  ( $p < 0,05$ ), artinya ada efek imunomodulator ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) terhadap jumlah sel makrofag peritoneal pada mencit

---

yang diinduksi vaksin BCG, sehingga ekstrak etanol daun mimba dapat diaplikasikan pada penderita tuberkulosis.

Copyright © 2018 Jurnal Teknologi Laboratorium.  
All rights reserved

---

**Corresponding Author:**

Evyy Diah Woelansari  
Jurusan Analisis kesehatan, Poltekkes Kemenkes Surabaya  
Jln. Karangmenjangan No. 18 A, Surabaya, Telp.+62 89611897612  
Email: evyydiahw@yahoo.com

---

## 1. PENDAHULUAN

Penyakit tuberkulosis merupakan salah satu permasalahan kesehatan di dunia. Berdasarkan data WHO dalam periode 2016-2020, Indonesia merupakan salah satu negara tertinggi kasus tuberkulosis, TB/HIV dan MDR-TB.<sup>1</sup> Notifikasi kasus tuberkulosis di Indonesia sampai bulan November 2016 sebanyak 360.565 kasus dengan angka kematian akibat tuberkulosis per tahun 2016 sebesar 110.000 dari 261 juta populasi di Indonesia. Pengobatan tuberkulosis di Indonesia telah mengikuti anjuran dari WHO, melalui program DOTS (*Directly Observed Treatment Short Course Chemotherapy*) yaitu penggunaan OAT (Obat Anti Tuberkulosis) minimal selama 6 bulan, namun, pengobatan tuberkulosis saat ini mendapat tantangan dengan adanya strain *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap OAT.<sup>2</sup> Salah satu faktor penyebab resistensi OAT adalah pengobatan yang tidak lengkap atau terputus. Berdasarkan kondisi tersebut, pencegahan serta pengobatan secara komprehensif dan tuntas harus dilakukan, salah satu alternatif yang dapat dilakukan yaitu melalui peningkatan sistem imun menggunakan senyawa atau bahan tertentu sebagai imunomodulator. Tanaman Mimba (*Azadirachta indica*), secara empiris telah dikenal oleh masyarakat sebagai salah satu obat tradisional yang dapat mengatasi berbagai macam penyakit. Daun mimba memiliki kandungan senyawa *catechin* dan *epicatechin* yang bermanfaat sebagai imunomodulator. Pemberian ekstrak cair daun mimba dapat meningkatkan ekspresi sitokin TNF- $\alpha$  pada epitel rongga mulut tikus wistar dengan dosis efektif adalah 200 mg/hari/Kg berat badan, semakin tinggi dosis ekstrak cair daun mimba maka ekspresi TNF- $\alpha$  juga semakin meningkat.<sup>34</sup> Berdasarkan uraian di atas, sudah dilakukan penelitian untuk mengetahui efek imunomodulator ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) terhadap jumlah makrofag peritoneal pada mencit yang diinduksi vaksin BCG. Rongga peritoneum merupakan tempat yang paling mudah untuk memanen makrofag mencit. Selain itu eksperimen secara *in vivo* dan analisis fungsional *in vitro*, menunjukkan makrofag peritoneum merupakan pertahanan *host* terdepan<sup>56</sup>. Untuk meningkatkan jumlah makrofag diperlukan penginduksi bahan stimulasi inflamasi *Mycobacterium bovis* *Bacillus-Calmette-Guerin* (BCG) agar makrofag yang teraktivasi.<sup>57</sup> Menurut Prendergast *et al*, antigen protein BCG sebagai perlindungan terhadap infeksi tuberkulosis *Mycobacterium* virulen dan vaksin kandidat untuk uji klinis.<sup>8</sup> Vaksin BCG dipilih untuk menggantikan strain *Mycobacterium tuberculosis* murni, dikarenakan tingkat penyebaran *Mycobacterium tuberculosis* yang sangat mudah dan infektifitas yang tinggi. *Mycobacterium bovis* termasuk dalam kelompok *Mycobacterium Tuberculosis Complex* (MTC) yang memiliki kesamaan karakteristik fenotip dengan *Mycobacterium tuberculosis* dan kesamaan manifestasi klinis tuberkulosis.<sup>9</sup>

## 2. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

### 2.1 Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*.

## 2.2 Lokasi Penelitian

Perlakuan hewan coba dan pengisolasian sel makrofag dari rongga peritoneal mencit dilakukan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Proses ekstraksi daun mimba dilakukan di Unit Layanan Pengujian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Proses pemeriksaan jumlah makrofag peritoneal mencit dilakukan di Laboratorium Terpadu Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya. Penelitian dilakukan pada bulan Juni-September tahun 2017.

## 2.3 Sampel Penelitian

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit jantan galur Balb/c yang memiliki berat badan  $\pm 25$  gram dan berusia  $\pm 2$  bulan. Berdasarkan jumlah kelompok, dengan rumus Federer didapatkan sampel penelitian sebanyak 5 ekor mencit tiap kelompok. Setiap kandang berisi lima ekor mencit, tiga kandang untuk mencit yang diberi perlakuan dengan diberi ekstrak etanol daun mimba, satu kandang untuk kelompok kontrol negatif, dan satu kandang lagi untuk kelompok kontrol positif.

## 2.4 Bahan Penelitian

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun mimba, daun mimba didapatkan dari Balai Penyuluh Pertanian Kecamatan Pangarengan Kabupaten Sampang dan vaksin BCG dari Puskesmas di Kabupaten Sampang. Bahan yang digunakan untuk pemeriksaan jumlah makrofag adalah suspensi makrofag, suspensi tersebut dibuat dengan campuran medium *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI) dan *Fetal Bovine Serum* (FBS), *Trypan Blue* 0,08%. Bahan RPMI, FBS, dan *Trypan Blue*. Instrumen yang digunakan pisau bedah, spuit 10 cc, dan tabung falcon, sentrifus, mikropipet, *yellow tip*, *haemocytometer* dan mikroskop.

## 2.5 Metode Penelitian

### 2.5.1. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Mimba

Ekstrak etanol daun mimba adalah sediaan yang dibuat dari daun mimba yang berwarna hijau tua. Kemudian daun mimba tersebut dikeringkan pada suhu ruang lalu dibuat sediaan serbuk dengan menggunakan blender. Sediaan serbuk daun mimba kemudian dimaserasi dengan etanol 70% selama 3x24 jam. Ekstrak kemudian disaring dan dipisahkan menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 50°C

### 2.5.2. Perlakuan Hewan Coba

Perlakuan hewan coba diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari kemudian dikelompokkan kedalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), dan kelompok perlakuan 3 (P3). Kelompok kontrol negatif, masing-masing mencit tanpa diinduksi vaksin BCG dan tanpa pemberian ekstrak etanol daun mimba. Kelompok kontrol positif tiap mencit diinduksi vaksin BCG 0,175 mL secara subkutan. Kelompok P1, masing-masing mencit diinduksi vaksin BCG 0,175 mL secara subkutan dan diberi ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 200mg/KgBB/hari sebanyak 0,5 mL selama 2 hari. Makrofag peritoneal mencit diisolasi dan dihitung jumlahnya pada hari ke-3. Kelompok P2, masing-masing mencit mencit dengan diinduksi vaksin BCG 0,175 mL secara subkutan dan diberi ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 200mg/KgBB/hari sebanyak 0,5 mL selama 4 hari. Makrofag peritoneal mencit diisolasi dan dihitung jumlahnya pada hari ke-5. Kelompok P3, masing-masing mencit dengan diinduksi vaksin BCG 0,175 mL secara subkutan dan diberi ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 200mg/KgBB/hari sebanyak 0,5 mL selama 6 hari. Makrofag peritoneal mencit diisolasi dan dihitung jumlahnya pada hari ke-7.

### 2.5.3. Pemeriksaan Jumlah Makrofag Peritoneal

Pemeriksaan jumlah makrofag peritoneal adalah pemeriksaan yang dilakukan dengan mengisolasi makrofag pada rongga peritoneal terlebih dahulu, yaitu memasukkan medium RPMI ke dalam rongga peritoneal mencit, kemudian digoyang-goyang selama  $\pm 3$  menit agar makrofag yang menempel pada dinding rongga peritoneum dapat tersuspensi kedalam medium. Suspensi kemudian diaspirasi menggunakan spuit dan diletakkan kedalam tabung falcon. Setelah itu,

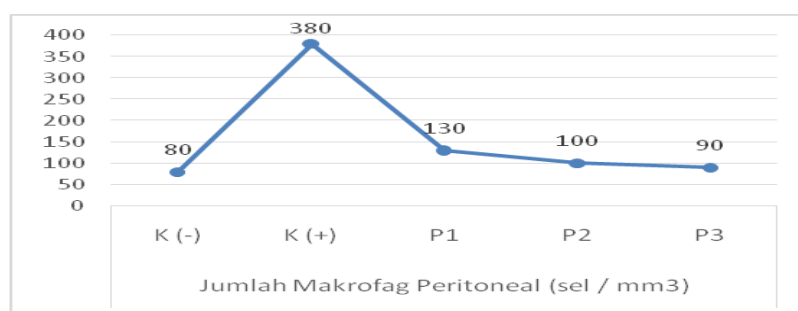
suspensi disentrifuse pada kecepatan 1200 rpm selama 10 menit, supernatan yang terbentuk dibuang dan ditambahkan 3 mL medium RPMI yang mengandung 10% FBS. Suspensi siap digunakan. Prosedur penghitungan makrofag memipet 100 $\mu$ L suspensi sel makrofag dan 100  $\mu$ L pewarna *trypan blue* 0.08% kedalam tabung reaksi. Setelah homogen, dimasukkan, beberapa tetes kedalam *haemocytometer*. Perhitungan jumlah makrofag pada lima kamar hitung pada kotak bagian tengah. Hasil jumlah sel dinyatakan dalam makrofag/mm<sup>3</sup>.

#### 2.5.4 Analisis Data

Analisis data secara statistik dilakukan menggunakan metode *Kruskal – Walis* untuk mengetahui efek imunomodulator ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) terhadap jumlah sel makrofag peritoneal pada mencit yang diinduksi vaksin BCG.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh data seperti gambar 1 berikut:



	K (-)	K (+)	P1	P2	P3
Mean ± SD	80 ± 83,6	380 ± 27,38	130 ± 44,72	100 ± 35,35	90 ± 22,36

Gambar 1. Hasil Uji Hasil Uji imunomodulator ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) terhadap jumlah sel makrofag peritoneal pada mencit yang diinduksi vaksin BCG

Sumber: Data Primer (2017)

Menurut penelitian Susanti dkk, tentang karakterisasi kultur makrofag dari *peritoneum macrophage* (PMs) menunjukkan makrofag lebih matur dibandingkan *Bone marrow macrophage* (BMs) dan *Spleenic macrophage* (SPMs).<sup>5</sup> Jumlah rata-rata makrofag peritoneal pada kelompok kontrol negatif (K(-)) adalah 80 makrofag/mm<sup>3</sup>. Jumlah makrofag pada kontrol negatif sesuai dengan nilai rujukan hitung sel monosit atau makrofag yaitu 2% dari sel leukosit yaitu 80 sel/mm<sup>3</sup>. Hasil tersebut lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K(+)) yaitu kelompok mencit yang diinduksi vaksin BCG tanpa perlakuan pemberian ekstrak etanol daun mimba dengan rata-rata jumlah makrofag peritoneal sebesar 380 sel/mm<sup>3</sup>. Pada kelompok positif menunjukkan adanya aktivitas makrofag akibat imunogenik dari vaksin BCG. Adanya antigen vaksin BCG menyebabkan terjadinya makrofag melakukan proliferasi dan fagositosis.<sup>10</sup> Adanya mencit dengan jumlah makrofagnya 250 sel/mm<sup>3</sup>, lebih kecil dari mencit yang lain pada kelompok positif, kemungkinan disebabkan ekspresi sitokin oleh antigen *Mycobacterium bovis* tidak maksimal sehingga berpengaruh terhadap jumlah makrofag.<sup>11</sup> Jumlah makrofag peritoneal pada kelompok P1, P2 dan P3 yaitu kelompok mencit yang diinduksi vaksin BCG dan diberi perlakuan pemberian ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 200 mg/Kg BB selama 2 hari, 4 hari, dan 6 hari cenderung menurun jumlahnya apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

Berdasarkan hasil penelitian dengan menggunakan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) dengan dosis 200 mg/kg/hari selama 2 hari, 4 hari, 6 hari, seperti pada gambar 1, menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) selama 2 hari menunjukkan jumlah makrofag paling banyak yaitu 130 sel/mm<sup>3</sup>. Sedangkan penurunan jumlah makrofag peritoneal paling besar terjadi pada kelompok P3 dengan jumlah sebesar 90 sel/mm<sup>3</sup>, jumlah makrofag peritoneal pada kelompok tersebut hampir sama dengan jumlah makrofag peritoneal pada kelompok kontrol negatif. Pada hasil analisa data statistik menggunakan uji *Kruskal-walis* diketahui bahwa nilai signifikansi  $p = 0,03$  pada  $\alpha = 0,05$

yang artinya nilai signifikansi lebih kecil dari alfa ( $p < 0,05$ ), yang artinya ada efek imunomodulator ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) terhadap jumlah sel makrofag peritoneal pada mencit yang diinduksi vaksin BCG. Hasil uji statistik tersebut dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 200 mg/Kg BB selama 2 hari, 4 hari, dan 6 hari dapat memberikan efek imunomodulator yang ditinjau dari jumlah makrofag peritoneal pada masing - masing kelompok mencit.

Makrofag sendiri merupakan *innate immunity* yang berfungsi sebagai pertahanan awal untuk melawan adanya infeksi. Sel Makrofag berperan penting dalam proses fagositosis dan berperan penting sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC) yang mengawali serta mengarahkan imunitas menuju sistem imunitas seluler yang diperantarai oleh sel T pada infeksi oleh bakteri intraseluler seperti *Mycobacterium tuberculosis*.<sup>1213</sup> Pada kelompok kontrol positif jumlah makrofag meningkat untuk melawan adanya infeksi yang berasal dari penginduksian vaksin BCG pada mencit. Kandungan vaksin BCG berupa protein antigen *M. bovis attenuated*, menginduksi Th1 yang mengekspresikan IFN- $\gamma$ , sehingga mekanisme efektor bakterisidal pada makrofag menjadi aktif.<sup>14</sup> Hasil penelitian terdahulu, vaksinasi BCG pada kucing dapat meningkatkan aktivitas makrofag dalam sekresi *Reactive oxygen intermediate* (ROI) dalam mekanisme pemusnahan *M.tuberculosis*, yang aktivitasnya diinduksi oleh sitokin IFN-  $\gamma$  dan TNF $\alpha$ .<sup>315</sup> Kemampuan vaksin BCG dalam menstimulasi respon imun banyak dilaporkan. Penelitian terdahulu oleh Ida Tjahyati menunjukkan vaksinasi BCG pada kucing meningkatkan secara bermakna aktivitas makrofag dalam fagositosis maupun sekresi ROI.<sup>16</sup> Lau *et al* menyatakan bahwa peran sistein protease pada vaksin BCG pada mencit berpotensi makrofag melakukan pro-apoptosis.<sup>310</sup>

Pada kelompok perlakuan satu dengan pemberian ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 200 mg/Kg BB selama dua hari, terdapat penurunan jumlah makrofag apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Adanya infeksi dengan penginduksian vaksin BCG akan membuat sel - sel imun terutama makrofag yang merupakan pertahanan pertama tubuh akan bekerja melawan infeksi tersebut. Hal tersebut disebabkan karena ekstrak etanol daun mimba salah satunya mengandung senyawa aktif flavonoid. Flavonoid menghambat enzim lipooksigenase yang berperan dalam biosintesis prostagaldin. Hal ini disebabkan karena flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik sehingga menghambat reaksi oksidasi karena bakteri.<sup>17</sup> IL-12 yang diaktifkan oleh senyawa flavonoid mampu meningkatkan proliferasi sel limfosit dan merangsang aktivasi sel Th1. Sel Th1 yang teraktivasi akan mengekspresikan sitokin IFN- $\gamma$  yang dapat mengaktifkan makrofag. Makrofag yang teraktivasi kemudian akan memperkuat proses fagositosis dengan menghasilkan senyawa yang salah satunya adalah nitrit oksida (NO) yang sangat efektif dalam melawan adanya infeksi bakteri.<sup>1218</sup> Flavonoid sebagai immunostimulan dapat memberikan rangsangan intraseluler seperti sel makrofag dan sel T agar bekerja lebih baik. aktivasi makrofag oleh senyawa flavonoid yang terkandung di dalam daun mimba akan membuat daya fagosit makrofag menjadi lebih baik dan mengeliminasi infeksi yang masuk.<sup>4</sup> Alkaloid pada ekstrak daun mimba bersifat antibakteri karena dapat merusak dinding sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk, pembelahan sel terhambat dan menyebabkan apoptosis sel.<sup>12</sup> Daun mimba mengandung senyawa bioaktif alkaloid, steroid, flavonoid saponin dan tanin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *salmonella* dan *E. coli*. Ekstrak etanol pada daun mimba secara fitokimia mengandung tanin, saponin, flavonoid dan terpenoid serta antioksidan. Jumlah makrofag akan menurun seiring dengan infeksi yang membaik.<sup>1719</sup>

Pada kelompok P2 dan P3 yang terjadi penurunan pada jumlah makrofag, Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama hari pemberian ekstrak etanol daun mimba pada mencit yang diinduksi vaksin BCG maka jumlah makrofag peritoneum pada mencit juga semakin menurun. Penurunan jumlah makrofag pada kelompok dengan pemberian ekstrak etanol daun mimba selama 4 hari dan 6 hari juga dapat disebabkan karena makrofag berada pada rongga peritoneum hanya selama 4–12 hari sehingga jumlahnya akan berangsur menurun secara alami dan tergantikan oleh sel – sel imun yang lebih spesifik. Penelitian Da-Long Zhang *et al*, menunjukkan bahwa makrofag autopagi teraktivasi terhadap tikus yang sepsis dalam 4 sampai 6 jam.<sup>20</sup>

Penelitian ini memberikan informasi kepada penderita tuberculosis tentang khasiat daun mimba sebagai alternatif pengobatan dalam memodulasi sistem imun pada infeksi tuberculosis. Bentuk pengaplikasian yang mudah dan sederhana dan bisa dilakukan oleh penderita tuberculosis sebagai pengobatan alternatif yaitu dengan merebus daun mimba. Oleh karena itu agar bisa

diaplikasikan kepada penderita tuberkulosis perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai dosis dan bentuk sediaan daun mimba yang sesuai untuk bisa diberikan kepada penderita tuberkulosis. Selain itu diharapkan peneliti lanjutan dapat mengukur ekspresi interleukin 12 (IL-12) sebagai aktifitas fagositosis sel makrofag.

#### 4. SIMPULAN dan SARAN

Kesimpulan penelitian ini yakni ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) dapat sebagai imunomodulator terhadap sel makrofag peritoneal pada mencit yang diinduksi vaksin BCG dengan rata-rata 130 sel/mm<sup>3</sup>, 100 sel/mm<sup>3</sup> dan 90 sel/mm<sup>3</sup>. Saran bagi peneliti selanjutnya yakni mengukur senyawa nitrit oksida (NO) dan ekspresi interleukin 12 (IL-12).

#### DAFTAR PUSTAKA

1. WHO. *Global Tuberculosis Report*; 2017.
2. Indonesia KKR. *Tuberkulosis Temukan Obat Sampai Sembuh*. Riset Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2016.
3. Tjahajati I. Vaksinasi BCG Meningkatkan Aktivitas Fagositosis dan Sekresi Reactive Oxygen Intermediate (ROI) Pada Makrofag Peritoneum Kucing yang Diinfeksi dengan *Mycobacterium tuberculosis*. *J Kedokt Brawijaya*. 2005;XXI(2).
4. Chaudhary S, Kanwar RK, Sehgal A, et al. Progress on *Azadirachta indica* Based Biopesticides in Replacing Synthetic Toxic Pesticides. *J Front Plant Sci*. 2017;8.
5. Susanti E, Ratnawati R, Aulanni'am, Rudijanto A. Karakterisasi Kultur Makrofag Hasil Isolasi Mouse Peritoneum Makrofag (MPM). *El-Hayah*. 2015;5(3).
6. Liao C-T, Andrews R, Wallace LE, et al. Peritoneal Macrophage Heterogeneity is Associated With Different Peritoneal Dialysis Outcomes. *J Kidney Int* 91 Elsevier. 2017:1088-1103.
7. Gogacz M, Gałczyński K, Wojtaś M, et al. Fas-Related Apoptosis of Peritoneal Fluid Macrophages in Endometriosis Patients: Understanding the Disease. *J Immunol Res* v. 2017.
8. Prendergast KA, Counoupas C, Eto LLC, Bitter W, Winter N, A. Triccas J. The Ag85B protein of the BCG vaccine facilitates macrophage uptake but is dispensable for protection against aerosol *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Vaccine*. 2016;34(23):2608-2615.
9. Mertaniasih NM, Koendhori EB, Kusumaningrum D. *Buku Ajar Tuberkulosis Diagnostik Mikrobiologis*. Surabaya: Universitas Airlangga; 2013.
10. Alice L, Singh V, Soualhine H, Hmama Z. Expression of Cathepsin S in BCG converts it into a pro-apoptotic and highly immunogenic strain. *J Vaccine*. 2017;35(16):2060-2068.
11. Taufiqurochman MA. Perubahan ekspresi heat shock protein 70 Akibat paparan medan elektromagnetik Extremely low frequency pada makrofag Peritoneum mencit yang diinfeksi *Toxoplasma gondii*. *Biomedika*. 2015;7(2).
12. Mustamu HL, Evacuasiyany E, Liana LK. The Ethanol Extract of Neem Leaf (*Azadirachta Indica* A. Juss) Effect towards Wound Healing in Male Swiss Webster Mice. *J Med Heal*. 2016;1(3).
13. Nazarudin M, Jusak Nugraha A. Nilai Diagnostik Rapid Test TbAg dan MPT64 Dengan Kultur Sebagai Gold Standar. *J Progr Stud Immunol Sekol Pasca Sarj Univ Airlangga*. 2016.

14. Agger E. Novel adjuvant formulations for delivery of anti-tuberculosis vaccine candidates. *HHS Public Access Adv Drug Deliv Rev.* 2016:73–82.
15. Nurkhasanah, Santoso RD, Fauziah R. The immunomodulatory effect of Zingiber cassumunar ethanolic extract on phagocytic activity, nitric oxide and reactive oxygen intermediate secretions of macrophage in mice. *IPCUAD.* 2017.
16. Nurwati I. Pengaruh Akupunktur Titik Feishu (BL-13) dan Zusanli (ST-36) pada inflamasi dan Airway remodeling mencit model asma kronik (kajian imunopatobiologi molekuler). 2015.
17. Supriyanto, Simon.BW, M R, Yunianta. Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* Juss). *Pros SNATI F Ke-4.* 2017.
18. Figueroa LA, Abarca-Vargas R, Alanis CG, Petricev VL. Comparison between Peritoneal Macrophage Activation by *Bougainvillea xbuttiana* Extract and LPS and/or Interleukins. *Biomed Res Int.* 2017:11.
19. Susmitha S, Vidyamol K, Ranganayaki P, Vijayaragavan R. Phytochemical Extraction and Antimicrobial Properties of *Azadirachta indica* (Neem). *Glob J Pharmacol* 7. 2013:316-320.
20. Zhang D-L, Zhang S-W, Cheng QH, et al. Effects of peritoneal macrophage autophagy on the immune function of sepsis mice. *Am J Clin Exp Immunol.* 2017:52-59.