



**Hubungan Nitric Oxide dengan Parasitemia pada Mencit *Balb/c* yang Diberi  
*Andrographis paniculata* dan Diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA**

**ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH**

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh  
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Oleh :

**SRI MARIA PUJI LESTARI**

**G2A 004 167**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS DIPONEGORO**

**SEMARANG**

**2008**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH**

Hubungan Nitric Oxide dengan Parasitemia pada Mencit *Balb/c* yang Diberi  
*Andrographis paniculata* dan Diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA

Disusun oleh:

Sri Maria Puji Lestari

G2A 004 167

Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas  
Kedokteran Universitas Diponegoro pada tanggal 14 Agustus 2008 dan telah  
diperbaiki sesuai saran-saran yang diberikan

Tim Penguji

Penguji

Pembimbing

Dr. Neni Susilaningsih, M. Si  
NIP. 131 832 243

dr. R. Ay. Kisdjamiatun, MSc.  
NIP. 131 916 041

Ketua Penguji

Dr. Noor Wijayahadi, M. Kes, Ph. D  
NIP. 132 149 104

**The Correlation Between Nitric Oxide and Parasit Level in *Balb/c* Mice  
which is Given *Andrographis paniculata* and Inoculated with  
*Plasmodium berghei* ANKA  
Sri Maria PL<sup>1)</sup>, Kisdjamiatun<sup>2)</sup>**

**ABSTRACT**

**Background:** Based on the former research, *Andrographis paniculata* as an alternative drug for malaria has been proved to hamper the development of *Plasmodium berghei* ANKA in vitro, elongate survival and reduce the parasit level in vivo. Invitro research proved that Nitric Oxide (NO) has a protective effect since oxidative NO product has parasitidal effect on plasmodium. However, it has not been known yet how the correlation between NO value and parasit level on Balb/c mice which is given *A. paniculata* and inoculated by *P. berghei* ANKA. The purpose of this research was to prove that correlation.

**Method:** This experimental laboratories research applied post test only control group design. The samples are 36 Balb/c mice divided into 2 groups; K group (control) which was given 0,1 ml CMC Na 0,5 % ; P group (treatment) which was given *A. paniculata* extract 16,608 mg/day that was dissolved in 0,1 ml CMC Na 0,5 %; The treatment was given from the 11<sup>th</sup> day pre inoculation until the 8<sup>th</sup> day post inoculation. The termination was being done in the 3<sup>rd</sup>, 6<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> day. The data from NO value of spleen product and parasit level was analyzed by Mann-Whitney and Kruskall Wallis test and continued to Spearman correlation test with SPSS for windows program.

**Results:** NO value of spleen product was not significantly different, parasit level in the 6<sup>th</sup> day post inoculation in treatment group was significantly lower than control group. The significant correlation between NO value and parasit level was found in the 8<sup>th</sup> day post inoculation treatment and control group.

**Conclusion:** The administration of *A. Paniculata* herbal extract did not affect NO value but it could decrease parasit level in the 6<sup>th</sup> day post inoculation. There was significant correlation between NO value and parasit level in the treatment and control group.

**Key Words:** *Andrographis paniculata*, *Plasmodium berghei* ANKA, Nitric Oxide, parasitemia

<sup>1)</sup> Student of Medical Faculty of Diponegoro University, Semarang

<sup>2)</sup> Lecturer staff of Parasitology Departement of Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang

**Hubungan Nitric Oxide dengan Parasitemia pada Mencit *Balb/c* yang Diberi *Andrographis paniculata* dan Diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA**  
**Sri Maria PL<sup>1)</sup>, Kisdjamiatun<sup>2)</sup>**

**ABSTRAK**

**Latar belakang:** *Andrographis paniculata* sebagai obat alternatif malaria berdasarkan penelitian sebelumnya terbukti secara *in vitro* menghambat perkembangan *Plasmodium berghei* ANKA, secara *in vivo* memperpanjang *survival* dan menurunkan tingkat parasitemia. Penelitian *in vitro* membuktikan bahwa Nitric Oxide (NO) berefek protektif karena adanya efek parasitidal dari produk oksidatif NO terhadap *plasmodium*. Namun belum diketahui bagaimana hubungan kadar NO dengan tingkat parasitemia mencit *Balb/c* yang diberi *A. paniculata* dan diinokulasi *P. berghei* ANKA. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan hubungan tersebut.

**Metode:** Penelitian eksperimental laboratoris dengan *post test only control group design*. Jumlah sampel adalah 36 mencit *Balb/c* yang dibagi menjadi 2 kelompok. Kelompok K (kontrol) diberikan 0,1 ml CMC Na 0,5 %. Kelompok P (perlakuan) diberikan 16,608 mg/hari ekstrak *A. paniculata* yang dilarutkan dalam 0,1 ml CMC Na 0,5 %. Pemberian perlakuan mulai dari 11 hari preinokulasi hingga hari ke-8 post inokulasi. Terminasi dilakukan pada hari ke 3, 6 dan 8. Data berupa kadar NO produk limpa dan tingkat parasitemia di analisis dengan uji beda *Mann-Whitney* dan *Kruskall Wallis* dilanjutkan uji korelasi *Spearman* dengan program *SPSS for windows*.

**Hasil:** Kadar NO produk limpa antar kelompok tidak terdapat perbedaan bermakna, tingkat parasitemia hari ke 6 post inokulasi ditemukan lebih rendah secara bermakna pada kelompok perlakuan dibanding kontrol. Hubungan kadar NO dengan tingkat parasitemia yang bermakna ditemukan pada kelompok perlakuan dan kontrol pada hari ke 8 post inokulasi.

**Simpulan:** Pemberian ekstrak herbal *A. paniculata* tidak meningkatkan kadar NO, namun dapat menurunkan tingkat parasitemia pada hari ke 6 post inokulasi. Hubungan yang bermakna antara kadar NO dengan tingkat parasitemia ditemukan pada kelompok perlakuan dan kontrol.

**Kata kunci:** *Andrographis paniculata*, *Plasmodium berghei* ANKA, Nitric Oxide, parasitemia

<sup>1)</sup> Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

<sup>2)</sup> Staf Pengajar Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

## PENDAHULUAN

Malaria adalah penyakit yang antara lain menyerang manusia, disebabkan oleh genus *Plasmodium* dan mudah dikenali dari gejala meriang (panas dingin menggigil) serta demam berkepanjangan.<sup>1</sup> WHO memperkirakan setiap tahun terdapat 300-500 juta kasus malaria dan 1 juta orang meninggal karena malaria. Di Indonesia angka kematian akibat malaria berat berkisar 20,9 - 50 persen. Tingginya angka kematian tergantung dari prosedur penanganan penderita malaria berat mulai dari kecepatan diagnosa dan pengobatannya serta fasilitas penanganan pada fasilitas kesehatan. Selain itu, adanya multiresistensi pengobatan terhadap *Plasmodium falciparum* merupakan faktor lain yang menyebabkan tingginya angka kematian akibat malaria berat.<sup>2</sup>

Penyakit malaria sulit dieradikasi karena parasit penyebab malaria sudah resisten terhadap obat malaria yang ada.<sup>3</sup> Sampai saat ini hanya kina yang dikenal sebagai pelumpuh malaria, padahal beberapa tanaman ternyata bisa membantu penderita malaria melawan penyakitnya, seperti contohnya *Andrographis paniculata* (*A. paniculata*). Tumbuhan ini dipilih sebagai obat alternatif, karena daunnya memiliki sifat antipiretik (menghilangkan demam), yang bisa membantu penderita malaria dalam melawan penyakitnya.<sup>4</sup> Ekstrak herbal *A. paniculata* terbukti secara *in vitro* mempunyai kemampuan menghambat perkembangan *Plasmodium berghei ANKA* (*P. berghei ANKA*).<sup>5</sup> Penelitian sebelumnya juga memperlihatkan bahwa *in vivo* pemberian ekstrak daun *A. paniculata* memperpanjang *survival* disamping dapat menurunkan tingkat parasitemia *P. berghei ANKA* pada mencit *Balb/c*.<sup>6</sup> Ada penelitian pula yang membuktikan

bahwa Nitric Oxide (NO) berefek protektif karena adanya efek parasitidal dari produk oksidatif NO terhadap plasmodium.<sup>7</sup> Penelitian ini menunjukkan bahwa NO bersifat parasitidal. Namun belum diketahui bagaimana hubungan kadar NO dengan tingkat parasitemia mencit *Balb/c* yang diberi *A. paniculata* dan diinokulasi *P. berghei ANKA*.

Permasalahan yang diangkat pada penelitian ini adalah bagaimana hubungan NO dengan parasitemia mencit *Balb/c* yang diberi *A. paniculata* dan diinokulasi *P. berghei ANKA*? Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan hubungan antara kadar NO dengan tingkat parasitemia pada mencit *Balb/c* yang diberi *A. paniculata* dan diinokulasi *P. berghei ANKA*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tambahan mengenai kegunaan *A. paniculata* pada pengobatan malaria dan dapat menjadi data dasar dalam pengembangan pemanfaatan tanaman obat tradisional selanjutnya terutama tentang *A. paniculata*.

## **METODE**

Penelitian ini mencakup bidang parasitologi, farmakologi dan imunologi, yang dilakukan di laboratorium parasitologi dan bioteknologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro selama kurang lebih 3 bulan.

Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan *post test only control group design*, menggunakan mencit *Balb/c* betina dewasa, umur 6-8 minggu, berat badan 20-25 gram, sehat (bulu halus dan aktif bergerak), tidak ada cacat secara anatomis. Besar sampel berdasarkan kriteria WHO, yaitu minimal 5 sampel tiap satu kelompok perlakuan. Besar sampel pada penelitian ini

adalah 36 ekor mencit *Balb/c*, dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan masing-masing 18 ekor. Hal ini karena diperlukan 6 ekor mencit (5 ekor mencit sampel dan 1 ekor cadangan) untuk setiap kelompok yang diterminasi pada hari ke 3, 6 dan 8.

Pemberian perlakuan mulai dari 11 hari preinokulasi. Pada kelompok perlakuan diberikan ekstrak methanol *A. paniculata* yang didapatkan dari PT. Phapros Indonesia dengan dosis yang telah disesuaikan,<sup>8</sup> yaitu sebanyak 16,608 mg/hari yang dilarutkan dalam 0,1 ml CMC Na 0,5 %, sedangkan kelompok kontrol hanya diberi 0,1 ml CMC Na 0,5 %. Pemberian dilakukan dengan menggunakan mikropipet secara oral. Pada hari ke-11, kedua kelompok mencit diinokulasi *P. berghei* yang diambil dari darah mencit *Swiss* pasase 2, sementara pemberian ekstrak dan CMC Na 0,5% tetap dilanjutkan hingga hari ke-8 post-infeksi. Pada hari ke-3, 6, dan 8 post-infeksi, diambil masing-masing 5 ekor mencit *Balb/c* baik dari kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan, kemudian mencit diterminasi dengan dislokasi tulang leher dan organ limpa mencit tersebut diambil secara aseptis. Setelah itu limpa diproses untuk dikultur.

Data yang dikumpulkan berupa kadar NO produk limpa dan tingkat parasitemia. Kadar NO diperoleh dari pemeriksaan supernatan kultur sel limpa dan diukur dengan reagen Gries.<sup>9</sup> Kadar NO diperiksa dengan microplate reader yang akan membaca optical density yang kemudian dikonversikan menjadi konsentrasi dalam satuan mol/ml. Tingkat parasitemia dihitung jumlah eritrosit berparasit dalam 1000 eritrosit secara mikroskopik pada sediaan hapus darah.

Untuk menganalisa hasil dilakukan uji *Mann-Whitney* dan uji *Kruskall Wallis*, selanjutnya dilakukan uji korelasi *Spearman* dengan menggunakan program *SPSS for windows*.

## HASIL

**Tabel 1.** Hasil uji untuk analisa kemaknaan antara kelompok perlakuan (P) dan kelompok kontrol (K) pada kadar NO (mol/ml)

Hari Ke	Kadar NO		P
	Perlakuan Rata-rata± SD	Kontrol Rata-rata± SD	
3	157,58 ± 37,74	181,60 ± 4,34	0,072
6	42,04 ± 5,19	38,080± 6,89	0,293
8	11,55 ± 7,12	5,72 ± 1,91	0,115

\*signifikansi untuk level  $\leq 0.05$

Rata-rata kadar NO di hari ke 6 dan 8 menunjukkan penurunan dibandingkan dengan hari ke 3 post inokulasi. Tidak terdapat perbedaan kadar NO yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada hari ke 3, 6, dan 8 post inokulasi.

**Tabel 2.** Hasil uji untuk analisa kemaknaan antar hari untuk kelompok perlakuan (P) dan kelompok kontrol (K) pada kadar NO (mol/ml)

Hari ke	Kadar NO	
	P Perlakuan	P Kontrol
3 dibanding 6	0,009*	0,009*
3 dibanding 8	0,009*	0,009*
6 dibanding 8	0,009*	0,009*

\*signifikansi untuk level  $\leq 0.05$

Terdapat perbedaan kadar NO yang bermakna diantara semua hari post inokulasi pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

**Tabel 3.** Hasil uji untuk analisa kemaknaan antara kelompok perlakuan (P) dan kelompok kontrol (K) pada tingkat parasitemia (%)

Hari Ke	Tingkat Parasitemia		<i>P</i>
	Perlakuan Rata-rata± SD	Kontrol Rata-rata± SD	
3	4,88 ± 1,24	6,46 ± 1,19	0.142
6	4,80 ± 1,39	44,44 ± 1,46	0.009*
8	38,62 ± 9,00	46,50 ± 7,99	0.142

\*signifikansi untuk level  $\leq 0.05$

Tingkat parasitemia di hari ke 6 lebih rendah secara bermakna pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada hari ke 3 dan hari ke 8.

**Tabel 4.** Hasil uji untuk analisa kemaknaan antar hari untuk kelompok perlakuan (P) dan kelompok kontrol (K) pada tingkat parasitemia (%)

Hari ke	Tingkat Parasitemia	
	<i>P</i> Perlakuan	<i>P</i> Kontrol
3 dibanding 6	0,754	0,009*
3 dibanding 8	0,009*	0,009*
6 dibanding 8	0,009*	0,602

\*signifikansi untuk level  $\leq 0.05$

Tingkat parasitemia kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna pada uji beda antar hari ke 3 dibanding 8 dan pada hari 6 dibanding 8. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara hari 3 dibanding 6. Tingkat parasitemia kelompok kontrol menunjukkan perbedaan yang bermakna pada uji beda antar hari ke 3 dibanding 6 dan pada hari 3 dibanding 6. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara hari 6 dibanding 8.

**Tabel 5.** Hasil uji korelasi antara kadar NO (mol/ml) dan tingkat parasitemia (%)

Kelompok		Koefisien korelasi	Signifikansi
Perlakuan	Hari ke 3	0,800	0,104
	Hari ke 6	-0,410	0,493
	Hari ke 8	-0,900*	0,037*
Kontrol	Hari ke 3	0,462	0,434
	Hari ke 6	-0,100	0,893
	Hari ke 8	-0,900*	0,037*

\*signifikansi untuk level  $\leq 0.05$

Hubungan antara kadar NO dan tingkat parasitemia yang bermakna ditemukan pada kelompok perlakuan dan kontrol pada hari ke 8 post inokulasi.

## PEMBAHASAN

Sejumlah jenis sel diketahui memainkan peran dalam imunitas terhadap malaria dengan membunuh organisme atau menghambat pertumbuhannya, termasuk disini, neutrofil, monosit atau makrofag, eosinofil, sel endotel dan *Natural Killer cell* (Sel NK).<sup>10</sup> Fungsi netrofil yang utama adalah memberikan respon imun nonspesifik dengan melakukan fagositosis serta membunuh atau menyingkirkan mikroorganisme yang masuk. Makrofag, disamping berfungsi

sebagai fagosit, juga berperan sebagai *antigen presenting cells* (APC) yang menyajikan antigen kepada sel T. <sup>11</sup>

Salah satu mekanisme lain yang sudah dikenal untuk melawan infeksi *P. falciparum* stadium darah aseksual (*in vitro*) adalah produksi NO dari *L-arginin* oleh enzim *Nitric Oxide Synthase* (NOS). NO diproduksi oleh makrofag, lekosit PMN, sel limpa dan limfosit T terutama T helper 1 (Th1). <sup>12,13</sup> NO pada hewan coba diketahui memiliki efek protektif melalui fungsi antiparasit, antibakteri bahkan antiprotozoa. <sup>14,15,16</sup>

*A. paniculata* mempunyai komponen aktif yang telah dievaluasi aktivitas malariannya terhadap *P. berghei ANKA*. Ekstrak ini mempunyai efek menghambat perkembangbiakan parasit. Selain itu, komponen utamanya yaitu *andrographolid* berfungsi untuk meningkatkan produksi antibodi (immunostimulant), merangsang daya tahan selular (fagositosis). <sup>5</sup>

Pada penelitian ini, terjadinya penurunan produksi NO yang bermakna pada kelompok perlakuan dan kontrol antara hari ke 3 dengan 6, hari ke 3 dengan 8 dan hari ke 6 dengan 8 (tabel 2) namun tidak disertai dengan perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada hari ke 3, 6, dan 8 post inokulasi (tabel 1) menunjukkan bahwa pemberian *A. paniculata* tidak menekan kapasitas NO oleh makrofag yang di stimulasi LPS. Tidak adanya hambatan produksi NO makrofag pada mencit *Balb/c* yang diberi ekstrak herbal kemungkinan berperan memperpanjang survival mencit *Balb/* yang diinokulasi *P. berghei ANKA*. Tidak adanya peningkatan bermakna produksi NO pada mencit *Balb/c* yang diberi ekstrak herbal *A. paniculata* dibanding kontrol, menunjukkan

bahwa NO bukan satu-satunya faktor protektif yang dapat memperpanjang survival mencit *Balb/c* yang diinokulasi *P. berghei ANKA*.

Tingkat parasitemia di hari ke 6 post inokulasi *P. berghei ANKA* lebih rendah secara bermakna pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol (tabel 3) menunjukkan bahwa pemberian *A. paniculata* dapat menurunkan tingkat parasitemia, walaupun akhirnya tingkat parasitemia kembali meningkat pada hari ke 8 dikarenakan kemampuan sistem imun mencit sudah tidak mampu menanggulangi lagi.

Hubungan antara kadar NO dan tingkat parasitemia yang bermakna ditemukan pada kelompok perlakuan dan kontrol pada hari ke 8 post inokulasi dengan koefisien korelasi -0,900 (tabel 5) menunjukkan adanya hubungan yang berlawanan yaitu keadaan menurunnya kadar NO bersamaan dengan meningkatnya tingkat parasitemia. Dari hasil analisis kadar NO antara kelompok kontrol dan perlakuan, pemberian ekstrak herbal *A. paniculata* tidak mempengaruhi kadar NO secara bermakna, sedangkan hasil uji analisa korelasi kadar NO dengan parasitemia kelompok perlakuan terdapat hubungan yang bermakna. Hal ini membuktikan bahwa hubungan tersebut terjadi karena NO bersifat parasitidal. <sup>7</sup>

## **KESIMPULAN**

1. Pemberian ekstrak herbal *A. paniculata* tidak mempengaruhi kadar NO secara bermakna pada mencit *Balb/c* yang diinokulasi *P. berghei ANKA*.

2. Pemberian ekstrak herbal *A. paniculata* menurunkan tingkat parasitemia secara bermakna pada hari ke 6 post inokulasi.
3. Hubungan yang bermakna antara kadar NO dengan tingkat parasitemia ditemukan pada kelompok perlakuan dan kontrol

### **SARAN**

1. Perlu penelitian lebih lanjut tentang faktor protektif lain yang berperan pada survival mencit terhadap *P. berghei ANKA*.
2. Perlu dilakukan uji hubungan antara faktor protektif lain dengan tingkat parasitemia pada mencit *Balb/* yang diberi *A. paniculata* dan diinokulasi *P. berghei ANKA*.

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan puji syukur kehadirat Allah SWT. Atas segala nikmat-Nya. Terimakasih penulis ucapkan kepada Program Penelitian fundamental Dikti yang telah membiayai penelitian ini, dr. Hadi Wartomo selaku peneliti utama yang telah berkenan melibatkan kami dalam penelitian ini, dr. R. Ay. Kisdjamiatun, MSc. Selaku dosen pembimbing, dr. Noor Wijayahadi selaku dosen penguji, dr. Neni selaku reviewer proposal dan dosen penguji. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada staf laboratorium parasitologi dan bioteknologi FK UNDIP, Ayah, Ibu serta seluruh pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Malaria. [online]. [1 screen]. Available from URL: <http://www.infeksi.com/articles.php?lng=in&pg=46>
2. Apa dan Bagaimana Malaria itu. [online]. [1 screen]. Available from URL: <http://www.suarapembaruan.com/News/2004/06/19/Editor/edi02.htm>
3. Gandahusada, Srisasi. Herry D Ilahude. Wita Pribadi. Parasitologi Kedokteran. Ed. 3. Jakarta: Balai Penerbit FK UI. 2003.
4. Mengusir malaria dengan tumbuhan. Available from URL: HYPERLINK <http://www.sinarharapan.co.id/berita/0606/02/ipt04.html>
5. Anonim. Alpha Omega Labs: *Andrographis paniculata*. In depth review. Available from URL : HYPERLINK <http://www.altcancer.com/andcan.htm>.2002
6. Djamiatun K, Sudaryanto, Henny K, Agoes W. Pengaruh Ekstrak Herbal *Andrographis paniculata* (sambiloto) Terhadap Anemia dan Survival Mencit Balb/c Selama Infeksi *Plasmodium berghei* ANKA. Media Medika Indonesiana. 2004; 39:146-153
7. Rockett K. A. Antimalaria properties of rabbit tumor necrosis factor serum: *in vivo* and *in vitro* studiess. Ph.D thesis, University of London. 1990.
8. Tang W, Eisenbrand G. Chinese drugs of plant origin, chemistry, pharmacology, and use in traditional and modern medicine. Berlin : Spinger-Verlug; 1992. p:101.
9. Titheradge A Michael. The Enzymatic Measurement of Nitrate and Nitrite. Totowa, NJ : Humana Press Inc. 1998. P: 83-91
10. Tambajong EH. Patobiologi malaria. Dalam: Harijanto PN, editor. Malaria : Epidemiologi, patogenesis, manifestasi klinis, & penanganan. Jakarta: EGC. 2000. 55-150.
11. Kresno SB. Imunologi: diagnosis dan prosedur laboratorium. Jakarta: FK UI. 1996.
12. Clark IA, Rockett KA. Nitric Oxide & Parasitic Disease. Advances in Parasitology Vol 37. Australia:1996.
13. Minc GD, L Tsarfaty dan JP Schwartz. 1994. Expression of inducible nitric oxide synthase by neurons following exposure to endotoxin and cytokine. British Journal of Pharmacology 112, 720-722.

14. Gregory SH, Wing EJ, Hoffman RA dan Sher RL. Reactive nitrogen intermediates suppress the primary immunologic response to listeria. *Journal of Immunology*. 1993, 150:2901-2909.
15. Kamijo, Harada RH, Matsuyama T, Posland M, Requirement for transcription factor IRF-1 in NO synthase induction in macrophages. 1994. *Science* 263:1612-1615.
16. Liew FY, Million S, Parkinson C, Palmer RMJ, Mocada S. Macrophages killing of leishmania parasite in vivo is mediated by nitric oxide from L-arginine. *Journal of Immunology*. 1990. 144:4794-4797.