

Pengaruh *Euphorbia milii* Terhadap Respon Imunitas pada Infeksi Tuberkulosis

Rachmatia Ramadanti¹, Tri Umiana Soleha², Muhammad Maulana³

¹Mahasiswa, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³Bagian Ilmu Kesehatan Komunitas, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Indonesia berada di peringkat kelima dari 22 negara dengan beban tinggi terhadap TB paru. Indonesia masih menempati peringkat ke-3 di dunia untuk jumlah kasus TB setelah India dan Cina. Setiap tahun terdapat 250.000 kasus baru TB dan sekitar 140.000 kematian yang disebabkan oleh TB. Tuberkulosis adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *M. tuberculosis*. Pada saat *M. tuberculosis* menyerang paru-paru, makrofag alveolar akan memfagositosis bakteri *M. tuberculosis* namun, kandungan lipoarabinomannan yang terkandung dalam dinding *M. tuberculosis* mampu membuat bakteri bertahan hidup dan berkembang biak di dalam makrofag. *Euphorbia milii* (*E. milii*) adalah tanaman hias yang memiliki beragam manfaat. Tanaman ini biasa digunakan oleh orang Cina dan Brasil sebagai obat tradisional. *E. milii* memiliki manfaat sebagai antimikroba dan imunomodulasi, sehingga memungkinkan untuk digunakan dalam kasus pasien yang terinfeksi TB. Telah banyak penelitian menunjukkan bahwa zat fitofarmaka aktif dari *E. milii* memiliki fungsi dalam sistem kekebalan tubuh dengan membuat agregasi neutrofil, meningkatkan sitokin pro-inflamasi, dan meningkatkan proliferasi berbagai sel CD⁺. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *E. milii* memiliki efek menguntungkan dalam mengaktifkan sistem kekebalan paru-paru terhadap infeksi *M. tuberculosis*.

Kata kunci: *E. milii*, infeksi TB, respon imunitas

Effect of *Euphorbia milii* on Immunity Respond Towards Tuberculosis Infection

Abstract

Indonesia is ranked fifth of the 22nd high burden countries against pulmonary TB. Indonesia still ranks 3rd in the world for the number of TB cases after India and China. Every year there are 250,000 new cases of TB and around 140,000 deaths from tuberculosis. Tuberculosis is an infectious disease caused by *M. tuberculosis*. When *M. tuberculosis* attacks the lungs, alveolar macrophages will phagocytose *M. tuberculosis*, but lipoarabinomannan contained in the walls of *M. tuberculosis* can help them to survive and multiply in macrophages. *Euphorbia milii* (*E. milii*) is an ornamental plant that has various benefits. This plant is commonly used by Chinese and Brazilians as traditional medicine. *E. milii* has benefits as an antimicrobial and immunomodulation, making it possible to benefit in cases of patients infected with tuberculosis. Many study suggest that an active phytopharmaca substances from *E. milii* have a function in the immune system by making neutrophil aggregations, increasing pro-inflammatory cytokine, and also increase proliferation of various CD⁺ cells. Some study show that *E. milii* have a beneficial effect in activating lung immunity system against *M. tuberculosis* infection.

Keyword : *E. milii*, Immunity respond, TB infection,

Korespondensi: Rachmatia Ramadanti, alamat Jl.Singgalang III, Karang Tengah, Ciledug, Tangerang , HP 087898921789, email: danti.kimdan27@gmail.com

Pendahuluan

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). Jumlah kasus baru pasien TB di seluruh dunia mencapai 8,8 juta per tahun, dengan 75% menginfeksi usia produktif. Indonesia termasuk dalam lima negara dengan jumlah penderita TB terbanyak.¹ Berdasarkan laporan WHO *Global Tuberculosis Control* pada tahun 2012, Indonesia berada di peringkat ke-5 dari 22 negara dengan beban tinggi melawan TB paru.² Indonesia masih menempati peringkat ke-

3 di dunia untuk jumlah kasus TB, setelah India dan Cina. Setiap tahun terdapat 250.000 kasus TB baru dan sekitar 140.000 kematian akibat TB. Korban tewas akibat TB paru di Indonesia diperkirakan 61.000 kematian setiap tahun.³ Pada tahun 2011, jumlah kasus perawatan ulang di Indonesia sebanyak 8.542 kasus, dan 70% di antaranya adalah kasus kambuh.⁴ Berdasarkan laporan Riskesdas, kasus TB di Indonesia meningkat dari tahun ke tahun. Terdapat 117 kasus TB per 10.000 populasi, sekiranya

sebanyak 298.128 kasus, sedangkan jumlah pasien TB di pulau Bali mencapai 3.100 kasus.⁵

Penyakit tuberkulosis disebabkan oleh *M. tuberculosis*, yaitu bakteri berbentuk basil yang berukuran panjang 0,5-3 µm dan merupakan bakteri tahan asam, hal tersebut disebabkan karena kandungan asam mikolat yang terdapat dalam struktur arabinogalactan dan peptidoglikan yang menyebabkan permeabilitas dinding sel bakteri menjadi sangat ketat, sehingga dapat mengurangi kerja dari antibiotik. Lipoarabinomannan juga merupakan salah satu struktur bakteri yang berperan dalam proses interaksi dan pertahanan diri terhadap makrofag.^{6,7} *M. tuberculosis* ditularkan lewat udara melalui droplet ketika pasien TB batuk, bersin, atau berbicara.⁷ *M. tuberculosis* memiliki inti nukleus yang cukup kecil yaitu sekitar 5-10 mikrometer sehingga dapat lolos dari proses penyaringan saluran pernafasan bagian atas, memasuki alveoli dan bertahan didalamnya. Pada saat invasi *M. tuberculosis*, makrofag alveolar sebagai sistem pertahanan tubuh yang bekerja di paru-paru melakukan fagositosis terhadap bakteri *M. tuberculosis*. Namun, kandungan lipoarabinomannan yang terkandung dalam dinding *M. tuberculosis* mampu membuat bakteri bertahan hidup dan berkembang biak di dalam makrofag. Makrofag yang terinfeksi *M. tuberculosis* merespons dengan mengsekresi sitokin pro-inflamasi seperti TNF-α, IL-1, IL-6, dan IL-12. Salah satu peranan IL-1 adalah untuk merangsang makrofag membentuk TNF-α, IL-6 dan meningkatkan regulasi dari proliferasi sel T yang nantinya akan mentimulasi neutrofil dan makrofag untuk menghancurkan fagosit basil dan mengaktifkan kekebalan sistem humoral lainnya, setelahnya akan menunjukkan hipersensitivitas tipe lambat terhadap protein TB.^{6,7}

Euphorbia milii (*E. milii*) adalah tanaman hias yang memiliki beragam manfaat. Tanaman ini biasa digunakan oleh orang Cina dan Brasil sebagai obat tradisional. Studi tentang aktivitas anti-mikroba *E. milii* dilakukan oleh peneliti India menggunakan metode cup plate, menghasilkan zona perlambatan pertumbuhan yang cukup berpengaruh pada organisme gram positif (*Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*) dan organisme gram negatif (*Escherichia coli* dan

Proteus vulgaris).⁸ *E. milii* mengandung senyawa glikosida triterpen aktif yang berfungsi sebagai imunomodulator. Senyawa-senyawa ini bekerja dengan menstimulasi aktivitas lisosom makrofag dan meningkatkan kadar IL-12, peningkatan proliferasi sel B dan sel T limpa sebagai pertahanan tubuh terhadap patogen.⁹ Senyawa glikosida triterpen diharapkan dapat meningkatkan eliminasi *M. tuberculosis* oleh makrofag. Imunomodulator adalah zat yang dapat memodulasi fungsi dan aktivitas sistem kekebalan tubuh. Imunomodulator memiliki 3 fungsi utama yaitu, mengatur sistem kekebalan tubuh (imunoregulator), meningkatkan fungsi dan aktivitas sistem kekebalan tubuh (immunostimulator), dan dapat menekan atau menghambat respon imun yang tidak diperlukan (immunosuppressors).¹⁰

E. milii memiliki manfaat sebagai antimikroba dan imunomodulator, memungkinkan untuk memberikan manfaat pada kasus pasien yang terinfeksi TB. Tubuh yang terinfeksi *M. tuberculosis* akan merangsang makrofag terhadap bakteri *M. tuberculosis* dengan membungkus bakteri, mengaktifkan sistem kekebalan seluler dan humoral.

Isi

Patofisiologi Infeksi *M. tuberculosis*

Penyakit TB dapat menular dari droplet nuklei yang dibatukkan atau dibersinkan oleh orang yang menderita TB. Lamanya partikel menetap dalam suatu ruangan tergantung pada kelembapan udara, ventilasi, dan ada tidaknya sinar UV yang masuk ke ruangan. Jika pencahayaan dan ventilasi baik maka *M. tuberculosis* akan menetap pada ruangan hanya sekitar 1-2 jam, namun jika ruangan lembab dan gelap maka kuman dapat menetap selama berhari-hari hingga berbulan-bulan. Partikel yang terhirup ke dalam tubuh akan menetap di saluran pernafasan dan jaringan paru, dikarenakan ukuran partikel yang sangat kecil maka *M. tuberculosis* dapat masuk hingga ke alveolus. Sebagian besar *M. tuberculosis* yang masuk ke dalam alveolus akan segera difagositosis oleh makrofag paru, namun ada beberapa kuman TB yang tidak dapat

dihancurkan oleh makrofag dan justru bereplikasi dan berkembang biak di dalam makrofag hingga membentuk koloni. Lokasi pertama koloni kuman TB di jaringan paru disebut Fokus Primer GOHN. Dari fokus primer *M. tuberculosis* akan menyebar dan menginfeksi ke bagian limfe yang menyebabkan inflamasi pada saluran limfe (limfangitis) dan kelenjar limfe (limfadenitis). Masa inkubasi pada pasien TB berlangsung selama 4-8 minggu yaitu setelah fokus primer, limfangitis, dan limfadenitis terjadi atau sering disebut dengan kompleks primer. Setelah kompleks primer terbentuk, imunitas seluler pada tubuh terhadap TB juga telah terbentuk.¹¹

Banyak kemungkinan yang dapat terjadi pada kompleks primer ini, seperti sembuh dengan tidak meninggalkan cacat sama sekali, sembuh dengan meninggalkan sedikit bekas (seperti sarang Ghon, garis fibrotic, atau sarang perkapuran di hilus), menyebar ke perkontinuitatum, menyebar secara bronkogen, menyebar secara hematogen yang memungkinkan untuk menjadi tuberkulosis milier, meningitis tuberkulosa, dan *thypobacillosis lancouz*.¹²

Respon Imunitas Terhadap Infeksi *M. tuberculosis*

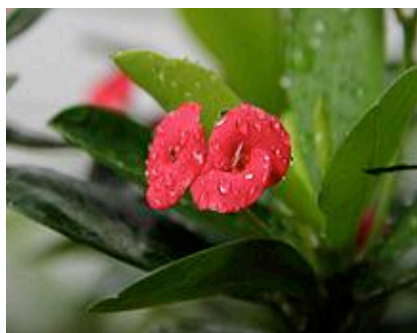
Pada saat invasi *M. tuberculosis*, sistem pertahanan tubuh di paru-paru yang bekerja adalah makrofag alveolar yang akan memfagositosis bakteri *M. tuberculosis* ke dalamnya melalui proses pengenalan yang melibatkan aktivasi komplemen C3b. Namun, kandungan lipoarabinomannan yang terkandung dalam dinding *M. tuberculosis* mampu menghambat peningkatan ion Ca^{2+} yang dapat menyebabkan gangguan pada jalur calmodulin yang akan menyebabkan fagosom dan lisosom fusi sehingga tidak ada pencampuran antara bakteri dan lisosom yang menyebabkan bakteri dapat bertahan hidup dan berkembang biak di dalam makrofag. Selain itu, faktor yang dapat mendukung pertumbuhan *M. tuberculosis* dalam makrofag adalah adanya gen pelindung seperti katG yang menghasilkan enzim katalase/peroksidase yang dapat melindungi *M.*

tuberculosis dari proses oksidatif, dan erp yang membantu pembentukan protein untuk berkembang biak kuman di dalam makrofag.⁶ Makrofag yang terinfeksi *M. tuberculosis* merespons dengan melepaskan sitokin proinflamasi termasuk TNF- α dan IL-1 untuk merangsang monosit dan limfosit T, terutama $CD4^+$ yang akan membentuk IFN- γ yang mengaktifkan makrofag lainnya. Proses ini dikenal sebagai respon makrofag mengaktifasi sel Th2 yang kemudian menyebabkan $CD4^+$ akan menghasilkan IL4, IL 5, IL 10 dan IL 13 dan menstimulasi sistem kekebalan humoral. Sel dendritik juga berperan dalam menghadirkan antigen dan merangsang proses kekebalan lebih lanjut di kelenjar getah bening. Tahap ini dikenal sebagai proses imunitas yang dimediasi sel. Pada tahap ini pasien dapat menunjukkan gambaran hipersensitivitas tipe-4 (*Delayed hypersensitivity*) terhadap protein TB. Reaksi ini dapat terjadi 48-96 jam setelah injeksi TB dan berlangsung hingga 6 minggu tetapi sekitar 20% pasien tidak bereaksi terhadap tes TB.^{6,7} Dalam jaringan paru-paru, makrofag yang terinfeksi dapat membentuk sel berinti raksasa dan membentuk granuloma yang dikelilingi oleh limfosit dan makrofag teraktivasi. Sel ini biasanya dikenali sebagai sel raksasa berinti banyak yang histopatologisnya berbentuk seperti tapal kuda. Pada granuloma, pertumbuhan *M. tuberculosis* dapat dihambat karena lingkungan oksigen rendah dan keasaman rendah. Saat mengalami proses penyembuhan fibrosis dapat terbentuk. Proses ini dikenal sebagai Respons Jaringan Rusak. Dalam periode tahunan, granuloma dapat mengembang dan membentuk kalsifikasi dan akan muncul dalam fitur radiologis sebagai kepadatan radioaktif di bidang paru-paru bagian atas, apeks paru, atau limfoma perihilar. Fokus granuloma juga dapat ditemukan di jaringan lain tergantung pada seberapa luas penyebaran *M. tuberculosis*. Dalam kasus-kasus tertentu, di pusat lesi, bahan caseous dapat meleleh, dinding bronkial dan pembuluh darah menjadi rusak dan rongga terbentuk. Hal ini menyebabkan penyebaran *M. tuberculosis* ke jaringan paru-paru lain dan dapat melewati saluran pernafasan, keluar saat batuk dan berbicara. Jika setelah proses infeksi ini tidak muncul, telah terjadi keseimbangan antara sistem kekebalan

tubuh dan reaksi patologis *M. tuberculosis*. Semakin banyak jumlah basil *M. tuberculosis*, semakin menular. Ini dapat dilihat dari jumlah *M. tuberculosis* dalam sediaan tahan asam. *M. tuberculosis* dapat dideteksi dalam dahak yang mengandung setidaknya 104 *M. tuberculosis*. Pada penderita tuberkulosis paru yang memiliki kavitas, mereka biasanya lebih infeksius.⁷

Efek *E. milii* Pada Sistem Imunitas Dalam Melawan Infeksi *M. tuberculosis*

Bunga *Euphorbia* memiliki 2000 spesies berbeda. Genus *Euphorbia* adalah genus terbesar di kerajaan tanaman obat. Banyak penelitian telah membahas kemampuan *E. milii* sebagai anti proliferasif, senyawa sitotoksik, antitumor, antimikroba, antidiare, antidipsogenik, *urease inhibitor*, *angiotensin converting enzyme inhibitor*, antipiretik, dan analgesik.¹³ *E. milii* mengandung senyawa fenolik yang dapat bertindak melawan beberapa gram positif dan negatif. Bahan aktif dari ekstrak etanol *E. milii* mengandung alkaloid, triterpenoid, saponin, fenolik, dan flavonoid yang mampu memberikan efek imunomodulator. Berdasarkan studi fitokimia pada *E. milii* ditunjukkan adanya bahan aktif β -sitosterol, cycloartenol, β -amyrin asetat, lupeol, euphol, flavonoid, dan triterpenoid. Flavonoid (fenol dan fenolik) adalah pigmen kuning yang ditemukan di kerajaan tumbuhan, bisa bebas, bisa berupa glikosida dan terkait dengan tanin (karbohidrat). Flavonoid juga dikenal sebagai anthoxanthins. Milliamine yang diisolasi dari lateks *E. milii* menunjukkan aktivitas yang kuat terhadap aspergillus dan mollusca. Bahan baku untuk ekstrak metanol dari *E. milii* menunjukkan aktivitas analgesik yang signifikan setara dengan natrium diklofenak.¹⁴



Gambar 1. Bunga *E. milii*¹³

E. milii telah diketahui memiliki properti yang dapat mempengaruhi sistem kekebalan tubuh. Beberapa penelitian menunjukkan efeknya terhadap respon imun in vitro dan in vivo. *E. milii* memiliki molekul gula yang berperan penting dalam proses inflamasi. *E. milii* mengandung senyawa glikosida triterpen aktif yang berfungsi sebagai imunomodulator. Senyawa ini bekerja dengan menstimulasi aktivitas lisosom makrofag dan meningkatkan kadar IL-12, menghasilkan peningkatan proliferasi sel B dan sel T limpa sebagai pertahanan tubuh terhadap patogen.⁹ Penelitian yang dilakukan oleh Baruffi et al., 2000 menunjukkan bahwa dengan menggunakan ekstrak *E. milii* pada tikus, terjadi agregasi neutrofil dengan cepat ketika dipicu oleh *E. milii* 0,1 mg/ml. Penjelasan dari hal ini adalah bahwa *E. milii* menginduksi migrasi dari neutrofil. Agregasi neutrofil sementara, yang diinduksi oleh *E. milii* mirip dengan respon kemotaksis maksimal, yaitu dengan adanya karakteristik adhesi neutrofil homotypic, sedangkan agregasi persisten, dipicu oleh jumlah *E. milii* yang lebih tinggi, sesuai dengan aglutinasi sel oleh lektin multivalen.¹⁵

Studi dari Avelar et al., 2011 menunjukkan bahwa pemberian 25 μ L ekstrak *E. milii* encer dalam 10% dimetilsulfoksida memberikan peningkatan yang signifikan ($p < 0,05$) dalam persentase CD4⁺ limfosit T positif untuk sitokin tipe 1, TNF- α , dan IFN- γ . Neutrofil dan limfosit T CD8⁺ menunjukkan profil produksi sitokin campuran yang ditandai dengan peningkatan persentase sel yang mengekspresikan IFN- γ , TNF- α , dan IL-10. Data menunjukkan respon sitokin tipe 1 dominan. Temuan yang disajikan menunjukkan bahwa *E. milii* dapat dikaitkan dengan pengaruhnya terhadap produksi TNF- α dan IFN- γ .¹⁶

Masih pada tahun yang sama, penelitian yang dilakukan oleh Coronel et al., 2011 menunjukkan lima hingga empat belas ekstrak *Euphorbiaceae* memiliki kemampuan untuk memodulasi setidaknya satu dari komponen parameter imun seperti proliferasi dan apoptosis dalam sel mononuklear darah perifer. Ketika mereka melakukan subfraksi lebih lanjut dengan kromatografi kolom gel silika, proliferasi diinduksi pada sel CD3⁺ dan CD3⁻.¹⁷ Menurut

ulasan dari Pascal et al., 2017 ekstrak asetonkloroform kering dari *E. milii* menunjukkan dua triterpenoid baru: lup-20 (29)-ene-33, 28 diol umumnya dikenal sebagai betulina dan (3 β , 23E)-Cycloart-23-ene-3,25-diol. Aktivitas farmakologis dari dua triterpenoid, khususnya, menunjukkan bahwa mereka memiliki aktivitas imunomodulator dengan mendorong efek stimulasi pada proliferasi limfosit darah perifer manusia yang diaktivasi oleh Phytohemagglutinin (PHA).¹³

Dengan mekanisme yang diketahui dari *E. milii* yang mempengaruhi imunitas, ada kemungkinan bahwa ekstrak tanaman ini dapat membantu tubuh kita menghadapi infeksi *M. tuberculosis*. Pernyataan ini didukung oleh Burnester., 2003 dan Linawati., 2016. Mereka menemukan bahwa ekstrak *E. milii* mampu meningkatkan aktivitas sel pembunuh alami pada tikus yang terinfeksi *M. tuberculosis* melalui ekspresi NKp46. NKp46 adalah reseptor aktivasi pada antigen permukaan sel pembunuh alami.¹⁸ *E. milii* memiliki kemampuan untuk meningkatkan ekspresi th17 melalui IL-17 pada tikus yang telah terinfeksi *M. tuberculosis*. Dimana IL-17 adalah sitokin proinflamasi. Ekstrak etanol dari bunga *E. milii* dengan dosis 10 mg/20 g berat badan mampu meningkatkan ekspresi NKp46 dalam jaringan paru-paru tikus yang terinfeksi *M. tuberculosis* selama dua minggu. NKp46 adalah salah satu gen yang mengatur produksi dan aktivitas sel *Natural Killer* paru dan membantu paru-paru untuk melawan infeksi *M. tuberculosis*.¹¹

Ringkasan

Bunga *Euphorbia* memiliki 2000 spesies berbeda. Genus *Euphorbia* adalah genus terbesar di kerajaan tanaman obat. Banyak penelitian telah membahas kemampuan *E. milii* sebagai anti proliferasi, sitotoksik, antitumor, antimikroba, antidiare, antidipsogenik, *urease inhibitor*, *angiotensin converting enzyme inhibitor*, antipiretik, dan analgesik. *E. milii* mengandung senyawa fenolik yang dapat bertindak melawan beberapa gram organisme positif dan negatif. Bahan aktif dari ekstrak etanol *E. milii* mengandung alkaloid, triterpenoid, saponin, fenolik, dan flavonoid yang mampu memberikan efek

imunomodulator. *E. milii* mengandung senyawa glikosida triterpenoid aktif yang berfungsi sebagai imunomodulator. Senyawa ini bekerja dengan menstimulasi aktivitas lisosom makrofag dan meningkatkan kadar IL-12, menghasilkan peningkatan proliferasi sel B dan sel T limpa sebagai pertahanan tubuh terhadap patogen. Pemberian 25 μ L ekstrak *E. milii* encer dalam 10% dimetilsulfoksida memberikan peningkatan yang signifikan dalam persentase CD4⁺ limfosit T positif untuk sitokin tipe 1 TNF- α dan IFN- γ . Ekstrak *E. milii* mampu meningkatkan aktivitas sel pembunuh alami pada tikus yang terinfeksi *M. tuberculosis* melalui ekspresi NKp46. NKp46 adalah reseptor aktivasi pada antigen permukaan sel pembunuh alami. *E. milii* memiliki kemampuan untuk meningkatkan ekspresi th17 melalui IL-17 pada tikus yang telah terinfeksi *M. tuberculosis*. Ekstrak etanol dari bunga *E. milii* dengan dosis 10 mg/20 g berat badan mampu meningkatkan ekspresi NKp46 dalam jaringan paru-paru tikus yang terinfeksi *M. tuberculosis* selama dua minggu.

Simpulan

Senyawa fenolik pada *E. milii* dapat mempengaruhi sistem kekebalan dengan berbagai cara. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *E. milii* dapat memiliki efek menguntungkan pada infeksi TB di mana mereka dapat meningkatkan kekebalan di paru-paru untuk melawan infeksi *M. tuberculosis*.

Daftar Pustaka

1. World Health Organisation. Global Tuberculosis Report. France. 2017
2. Yaumul. Analisis Kualitatif Kejadian Relaps Tuberkulosis Paru di Puskesmas Sidomulyo Pekanbaru Tahun 2011-2012. Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia. 2012
3. Rahmani Agnia. Laporan Kasus: Tuberkulosis Kasus Kambuh. Jurnal Pulmonology UNSYIAH. 2016
4. World Health Organization. Global tuberculosis control: WHO report. Geneva: 2013.
5. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis. Jakarta : Depkes RI. 2014

6. Philips J, Ernst J. Tuberculosis pathogenesis and immunity. *Annual Rev Pathol Mech Dis*. 2012; 7:353-384
7. Sakamoto K. The pathology of *M.tuberculosis* infection. *veterinary pathology*. 2012; 49(3): 122-130
8. Narendra D, Mounisha A, Bhavani B, Sireesha G, Kamari K, & Reddy M. Antimicrobial studies on flowers of *E. milii*. *Scholars Research Library*. 2015; 4(1) 196-204.
9. Qin W, Zhong Z, Ruan Wu, Liu W. Chemical constituent and biological activities of *Euphorbia fischeriana* STEUD. *Chemistry and Biodiversity*. 2001; 8(7): 1205-1214
10. Bratawidjaja K. *Immunologi Dasar*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2006
11. Bahar A, Amin Z. *Tuberkulosis Paru dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Interna Publishing. 2015
12. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. *Pedoman Diagnosis & Penatalaksanaan Tuberkulosis di Indonesia*. 2006
13. Linawati N, Sukrama M, Mertaniasih M. The influence of *E. milii* flower extract in the activity of Th-17 through IL-17 secretion in *M.tuberculosis* infected mice. *International Journal of Science and Research*. 2016; 10(2): 626-627
14. Islam N, Khan I, Rauf A, Muhammad N, Shahid M, & Shah M. Antinoceptive, muscle relaxant and sedative Activities of gold nanoparticles generated by methanolic extract of *E. milii*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2015; 4(1): 57-65
15. Baruffi M, Sakamoto M, Hampe M, Roque C. Neutrophil migration and aggregation induced by *E. milii*, a lectin from the latex of *E. milii*, var. *milii*. *Inflamm. Res*. 2000; 49: 732 – 736
16. Avelar B, Leilis F, Weber M, Fagundes S, Lopes M, Filho A, Melo G. The crude latex of *E. milii* modulates the cytokine response of leukocytes, especially CD4⁺ T lymphocytes. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2011; 21(4): 662-667
17. Colonel D, Diaz L, Quintero L, Torres F, Echverri F, Sucre A, et al. New promising Euphorbiacea extracts with activity in human lymphocytes from primary cell cultures. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 2011; 33(2): 279–290
18. Burnester F, Simon L. Analgesic, anti-inflammatory and antinuclear properties of Euphorbiaceae. *Pharmacologia*. 2003; 3(1): 48-53