

Pengaruh pemberian ekstrak meniran merah (*Phyllanthus urinaria*) terhadap penekanan jumlah limfosit pada organ timus mencit balb/C yang diinfeksi bakteri *Salmonella thypi*

IFANDARI, SURANTO[♥], Y NINING SRI WURYANINGSIH

Ifandari, Suranto, Wuryaningsih YNS. 2012. Effect of Phyllanthus urinary extract on the suppression of lymphocytes in the thymus organs of mice BALB / C infected by Salmonella thypi bacteria. Bioteknologi 9: 1-6. Phyllanthus urinaria is one of species in genus Phyllanthus, which has variety of morphological characteristics and usually used as traditional herb medicines. Now days, this plant has been intensively treated for laboratory experiment especially for diuretic, hypoglycemic, anti hepatitis B and anti cancer. The aims of this research were to investigate effect P.urinaria treatments on the total number of lymphocyte in thymus organs of mice Balb/C infected by Salmonella thypi; and to study the variety dosage effect of P. urinaria extracts to decrease lymphocyte cells. The study designed with post test only control group to 48 Balb/C mice. The experiment was 8 groups consist of negative control, positive control, treatments with variety dosage 3x0,065 mg/day, 3x0,130 mg/day and 3x0,260 mg/day for P.urinaria and P.niruri. The experiment was doing in 10 days with orally treatments, and Salmonella injected in mice at 4th day. At 11th day, mice were killed and the lymphocyte was isolated from thymus. Lymphocyte were counted. The results showed that P.urinaria treatments has decrease the total number of mice Balb/C lymphocyte on spleen to normal condition. The variety dosage of P.urinaria did not effect to decrease lymphocyte cell.

Key words: *Phyllanthus urinaria*, response, proliferation, lymphocyte

Ifandari, Suranto, Wuryaningsih YNS. 2012. Pengaruh pemberian ekstrak meniran merah (Phyllanthus urinaria) terhadap penekanan jumlah limfosit pada organ timus mencit balb/C yang diinfeksi bakteri Salmonella thypi. Bioteknologi 9: 1-6. Meniran merah merupakan salah satu anggota dalam genus Phyllanthus. Anggota dalam genus ini memiliki variasi karakter morfologi dimana beberapa diantaranya telah digunakan sebagai tanaman obat tradisional. Meniran merah digunakan dalam penelitian sebagai diuretik, hipoglikemik, antihepatitis-B dan anti kanker. Kemanfaatan tanaman ini sebagai immunomodulator belum digali. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian meniran merah terhadap jumlah limfosit pada organ timus mencit Balb/C yang diinfeksi bakteri Salmonella thypi dan mengetahui pengaruh variasi dosis ekstrak meniran merah terhadap jumlah limfositnya. Penelitian ini menggunakan rancangan the post test-only control group terhadap 48 ekor mencit Balb/C yang terbagi dalam 8 kelompok dan dilakukan selama 10 hari. Kelompok kontrol negatif, kontrol positif, kelompok perlakuan dengan variasi dosis masing-masing 3x 0,065 mg/hr, 3x0,130 mg/hr dan 3x0,260 mg/hr untuk tiap jenis ekstrak meniran merah dan hijau. Mencit diinfeksi pada hari ke-4 S. typhi dan hari ke-11 dikorbankan. Limfosit diisolasi dari organ timus, kemudian dihitung jumlahnya. Data dianalisis dengan T test untuk melihat perbedaannya dan data dalam kelompok meniran merah dilakukan uji anava. Pemberian ekstrak meniran merah menekan jumlah limfosit mendekati keadaan normal. Variasi penambahan dosis ekstrak meniran merah tidak mempengaruhi penurunan jumlah limfosit.

Kata kunci: *Phyllanthus urinaria*, respon, proliferasi, limfosit

♥ Alamat korespondensi:

¹ Program Studi Biosains, Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret, Surakarta 57126, Jawa Tengah, Indonesia

Manuskrip diterima: 2 Februari 2012.
Revisi disetujui: 8 Maret 2012.

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai pemilik kekayaan plasma nutfah yang besar, menyimpan keberagaman jenis tanaman obat. Tanaman obat merupakan salah satu unsur penting dalam penanganan kesehatan. Tanaman obat memiliki kandungan

senyawa aktif yang dapat berperan sebagai anti bakteri, anti viral, antiparasit, anti oksidan, antiinflamasi, anti alergi, anti kanker, immunomodulator dan lain sebagainya.

Genus *Phyllanthus* merupakan kelompok tanaman yang sebagian besar anggotanya telah digunakan sebagai obat herbal. Berdasarkan

penelitian, anggota genus *Phyllanthus* memiliki senyawa aktif yang berperan sebagai anti viral (Liu et al. 2001; Yang et al. 2007), antibakteri (Ho Lai et al. 2008), anti kanker (Huang et al. 2010), hepatoprotektif (Sharma et al. 2011), antioksidan (Chularojmontri et al. 2005; Karuna et al. 2009) dan khususnya meniran hijau berperan sebagai immunomodulator (Maat 1997). Keragaman yang ada dalam genus ini dapat berdasarkan morfologi, anatomi, kandungan fitokimia dan tingkat gen. Meniran merupakan nama lokal dari beberapa spesies dari anggota genus *Phyllanthus*. Berdasarkan klasifikasi Hadad, Meniran dibedakan menjadi tiga macam yaitu Meniran Merah, Meniran Kuning dan meniran Hijau (Hidayat dkk. 2008). Untuk Meniran merah dengan nama latin *Phyllanthus urinaria* dan meniran Hijau dengan nama *Phyllanthus niruri*. Spesies meniran hijau dan merah memiliki kenampakan morfologi luar yang hampir sama, perbedaan yang tampak mencolok terlihat pada warna batang dan cabang. Meniran merah mempunyai warna batang dan cabang merah tua sedangkan meniran hijau berwarna hijau muda. Perbedaan ini oleh masyarakat diabaikan dalam penggunaannya sebagai obat tradisional, akan tetapi perlu diteliti lebih lanjut adanya anggapan tersebut.

Limfosit merupakan sel yang berperan penting dalam sistem imunitas. Limfosit mengendalikan sistem imun seluler dan humoral dalam menghadapi antigen. Limfosit diproduksi dalam organ limfoid primer. Timus merupakan salah satu organ limfoid primer yang berperan sebagai tempat maturasi sel Limfosit T (Kresno 1996).

Sistem imunitas yang meningkat dapat menanggulangi berbagai macam jenis penyakit. Senyawa immunomodulator dapat meningkatkan sistem imun seluler maupun humoral dalam tubuh. Selain itu, penggunaan senyawa yang berperan sebagai immunomodulator, dapat meminimalkan efek negatif dari suatu pengobatan intensif. Penggunaan senyawa immunomodulator sering digunakan sebagai pendamping pengobatan yang bersifat intensif (Radityawan 2005).

Jenis tumbuhan yang telah diteliti sebagai peningkat daya immunomodulator salah satunya adalah Meniran Hijau (Maat 1997). Penelitian tentang manfaat meniran hijau telah banyak dilakukan, salah satunya berperan sebagai immunomodulator. Meniran merah telah diteliti mempunyai efek sebagai anti viral (Yang et al. 2007) anti kanker (Huang et al. 2010), diuretik, hipoglikemik (Lans 2006), antioksidan dan

kardioprotektif (Chularojmontri et al. 2005) sedangkan bagaimana potensi Meniran Merah sebagai immunomodulator belum digali.

Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui pengaruh pemberian ekstrak meniran merah (*P.urinaria*) terhadap jumlah limfosit pada organ Timus Mencit Balb/C yang diinfeksi bakteri *Salmonella thypi* dan efek variasi dosis terhadap jumlah limfositnya. Kemanfaatan yang diharapkan dari penelitian ini adalah memberikan informasi bahwa ekstrak meniran merah dapat digunakan sebagai peningkat daya immunomodulator untuk penyakit demam tifoid maupun infeksi penyakit lain.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Mencit Balb/C, pellet, ekstrak meniran merah, ekstrak meniran hijau, medium trypticase soy broth, strain bakteri *Salmonella thypi*, NaCl isotonic, akuabides steril dan sampel berupa limfosit yang diambil dari kelenjar timus, dan limpa. Reagen yang digunakan adalah: alkohol 70%, methanol 90%, asam asetat 3%, Phosphate Buffered Saline(PBS), RPMI medium 1640, Penstrep, Fungasol, NaHCO₃, Hepes.

Pembuatan ekstrak meniran

Tumbuhan meniran merah dan hijau diekstraksi dengan metode Soxhletasi dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak berupa pasta dan dicairkan dengan CMCMA 0,25%. dengan konsentrasi sesuai dosis. Untuk pemberian ekstrak per mencit sebanyak 0,5 mL untuk tiap dosisnya

Perlakuan pada hewan uji

Hewan uji merupakan mencit galur *BaLB/C* yang berumur 4-7 minggu, jantan, aktif dan berat badan antara 20-30 g/ekor. Sebelum perlakuan dilakukan aklimatisasi selama 7 hari. Pemberian ekstrak Meniran Merah dan Hijau sesuai dosis selama 10 hari. Dosis perlakuan baik Meniran Hijau maupun Meniran Merah adalah 3x0,065 mg/hari, 3x0,130 mg/hari dan 3x0,260 mg/hari. Mencit diberi ekstrak meniran mulai hari ke-1 sampai ke-10. Pada hari ke-4, mencit diinfeksi bakteri *S. typhi*. Mencit diinfeksi Bakteri *S. thypi* secara *intra-peritoneal*. Jumlah bakteri yang diinfeksi ke mencit adalah 10⁵ CFU yang ada dalam medium garam fisiologi dan Inokula bakteri strain *S. thypi* didapatkan dari laboratorium PAU Pangan dan Gizi UGM. Pada

hari ke-11, mencit dikorbankan. Kelenjar timus yang berada diatas dada diambil dan diletakkan dalam cawan petri diameter 50 mm yang berisi 5 mL RPMI.

Isolasi dan penghitungan sel limfosit

Limfosit diisolasi dari organ Timus dengan medium RPMI. Media RPMI dipompakan ke dalam organ sehingga limfosit ikut keluar bersama media. Suspensi sel dimasukkan dalam tabung sentrifus 10 mL dan disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 1500 rpm dengan suhu 5°C. Pelet yang didapat, disuspensikan ke dalam 2 mL *Tris Buffered Ammonium Chloride* untuk proses pelisisan eritrosit. Sel dicampur hingga homogen dan didiamkan pada suhu ruang selama 2 menit. FBS sebanyak 1 mL ditambahkan pada dasar tabung. Kemudian suspensi sel dicampur dan disentrifus pada 1200 rpm 5°C selama 5 menit dan supernatan dibuang. Pelet dicuci 2 kali dengan RPMI dan dilakukan proses seperti awal hingga didapatkan beningan dan sel limfosit disuspensikan pada medium komplit. Limfosit dihitung jumlahnya dengan hemositometer dengan pewarnaan biru tripan. Sel yang hidup berwarna bening dan sel yang mati berwarna biru tua. Sel limfosit yang dihitung merupakan sel hidup.

Analisis data

Data yang berupa jumlah limfosit dianalisis secara statistik dengan bantuan program SPSS versi 17. Uji statistic yang digunakan adalah Independent T Test untuk membandingkan antar semua perlakuan ekstrak dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Data kelompok jenis meniran merah dilakukan uji anava kemudian dilakukan estimasi kurva untuk melihat pola kecenderungan penambahan dosis terhadap jumlah limfosit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Timus sebagai organ limfoid primer berfungsi dalam proses maturasi sel Limfosit T. Jumlah limfosit menjadi indicator dari respon imunitas tubuh. Limfosit yang beredar dalam darah mengalami kenaikan jika system imunnya meningkat dibandingkan dengan keadaan sakit (Lestarini 2008). Hal yang sama terjadi pada organ Limpa. Akan tetapi, efek yang terjadi pada organ timus belum diketahui secara detail

dengan pemberian senyawa yang bersifat immunomodulator .

Ekstrak meniran merah akan diuji pengaruhnya terhadap respon imun tubuh terutama terhadap jumlah limfosit yang ada dalam organ Timus. Untuk mengetahui efek imunostimulator yang terjadi pada organ Timus maka digunakan ekstrak meniran hijau sebagai pembanding. Ekstrak meniran hijau telah diketahui mempunyai efek imunostimulator dan telah diuji secara klinis (Maat 1997). Dengan digunakan pembanding ekstrak meniran hijau diharapkan diketahui bagaimana efek dari pemberian ekstrak meniran merah terhadap daya immunomodulator.

Hasil penelitian (Tabel 1.) menunjukkan jumlah limfosit hasil isolasi organ Timus. Jumlah limfosit pada kontrol positif paling besar dan jumlahnya mendekati 10 kali lipat dari kontrol negatif. Jumlah limfosit pada perlakuan meniran merah mendekati keadaan sehat pada semua variasi dosis sedangkan perlakuan meniran hijau masih diatas dari meniran merah.

Tabel 1. Jumlah sel Limfosit mencit hasil isolasi organ Timus

Perlakuan	Jumlah limfosit hasil isolasi organ timus dalam 1mL
Kontrol negatif (kondisi sehat)	380.357 ± 151.013,4
Kontrol positif (kondisi sakit)	3.775.000 ± 1.287.925
M. H dosis 3X0,065 mg/hari	2.952.500 ± 2.283.131 ^b
M.H dosis 3X0,130 mg/hari	877.500 ± 286.192,7 ^b
M.H dosis 3X0,260 mg/hari	716.666 ± 449.142,7 ^{ab}
M.M dosis 3X0,065 mg/hari	446,428 ± 271.254,3 ^a
M.M dosis 3X0,130 mg/hari	214,062 ± 46.018,9 ^{ab}
M.M dosis 3X0,260 mg/hari	350,000 ± 216.403,2 ^a

Keterangan: M.H : Meniran Hijau; M.M : Meniran Merah; a: berbeda nyata dengan kontrol positif; b: berbeda nyata dengan kontrol negatif

Jumlah limfosit meniran hijau berbeda nyata dengan kontrol negatif dengan nilai jauh lebih besar. Pada perlakuan meniran merah terdapat perbedaan nyata dengan kontrol negatif hanya pada dosis 3x0,130 mg/hari dengan nilai sedikit lebih kecil. Perlakuan ekstrak meniran hijau berbeda secara nyata dengan kontrol positif hanya pada dosis 3x0,260 mg/hari sedang pada meniran merah semua berbeda nyata.

Jumlah limfosit pada perlakuan meniran merah pada ketiga variasi dosis tidak berbeda nyata. Jumlah limfosit terkecil pada dosis 3x0,130 mg/hari, sedangkan pada dosis lainnya yaitu

3x0,065 mg/hari dan 3x0,260 mg/hari relatif tidak jauh berbeda. Jumlah limfosit akibat pemberian ekstrak meniran hijau mengalami penurunan dibandingkan kontrol positif. Jumlah limfosit terkecil dihasilkan pada dosis 3x0,260 mg/hari.

Pengaruh variasi dosis dalam satu kelompok meniran tidak semua berbeda secara nyata, akan tetapi dapat dilihat pola kecenderungannya dalam menurunkan jumlah limfosit. Variasi penambahan dosis pada meniran merah tidak berbeda secara nyata terhadap jumlah limfosit. Pemberian meniran Merah cenderung menurunkan jumlah limfosit dari dosis 3x0,065 mg/hari hingga pada dosis 3x0,130 mg/hari dan mengalami peningkatan kembali hingga dosis 3x0,260 mg/hari. Pola kecenderungan pada pemberian ekstrak meniran merah mengikuti pola kurva Parabolik dengan nilai $R^2=0,936$. Pemberian ekstrak meniran Hijau pada dosis 3x0,065 mg/hari jumlahnya besar dan terus menurun pada dosis 3x0,130 mg/hari dan 3x0,260 mg/hari. Pola kecenderungan pada pemberian ekstrak meniran hijau mengikuti pola kurva eksponensial dengan nilai $R^2=0,779$.

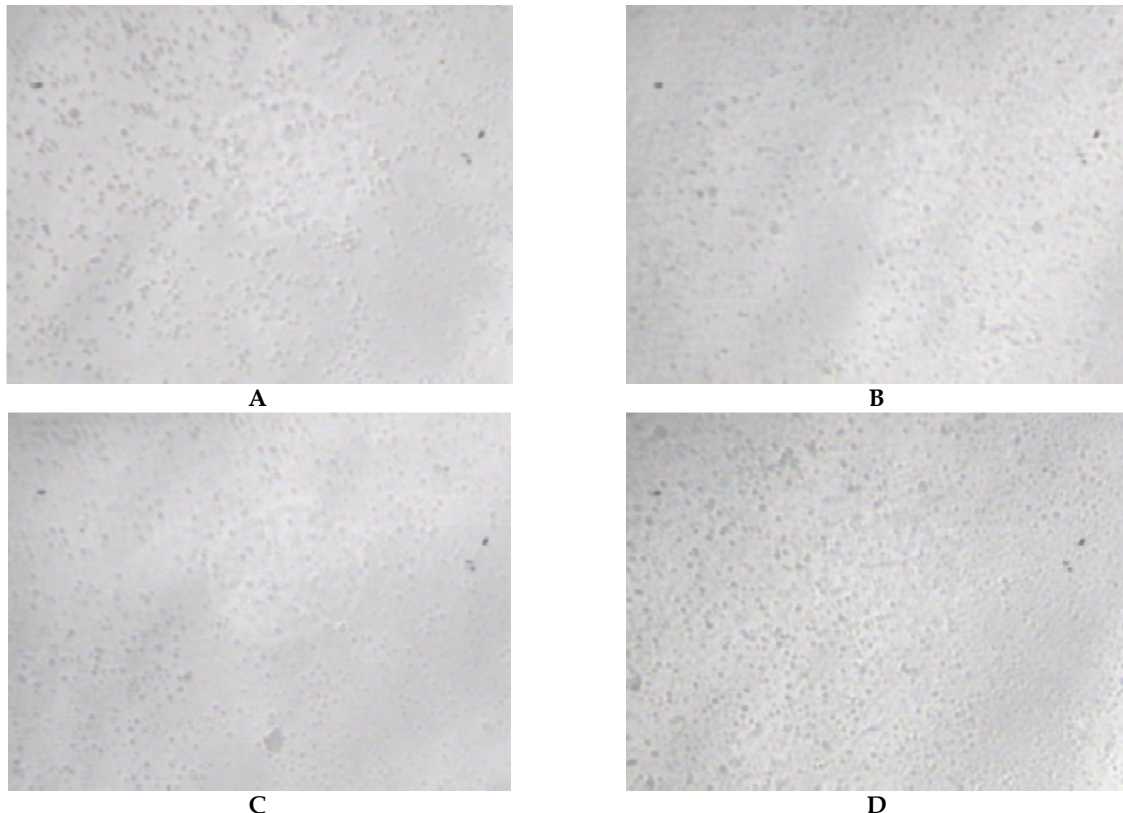
Limfosit hasil isolasi organ Timus pada kontrol positif (keadaan sakit) berbeda

kepadatannya dengan kontrol negatif (keadaan sehat). Limfosit pada perlakuan meniran hijau dan merah tampak berbeda kepadatannya. Perlakuan meniran merah memberi pengaruh terhadap kepadatan limfosit hasil isolasi pada organ Timus.

Kepadatan limfosit hasil isolasi organ Timus pada kontrol positif (Gambar 1A) lebih besar dibandingkan pada kontrol negatif (Gambar 2B). Kepadatan limfosit pada perlakuan meniran merah (Gambar 1C) lebih sedikit dibandingkan pada meniran hijau (Gambar 1D). Limfosit yang dihitung adalah limfosit hidup dengan kenampakan hitam bersinar pada gambar.

Pembahasan

Data hasil penelitian memiliki heterogenitas yang tinggi dalam tiap kelompok perlakuan. Ketidakteragaman ini menyangkut rentang data jumlah limfosit yang ada dalam tiap kelompok perlakuan maupun kontrol yang tidak homogen. Variasi ini normal terjadi pada keadaan in vivo dan tidak dapat dikendalikan oleh peneliti. Walaupun demikian, efek dari pemberian ekstrak dapat dilihat kecenderungannya.



Gambar 1. Limfosit dari organ Timus mencit pada: A. Kontrol positif (sakit) dengan diinfeksi *Salmonella thypi*; B. Kontrol negatif (sehat) tanpa diinfeksi *Salmonella thypi*. C. Limfosit dari organ Timus mencit pada perlakuan meniran merah, D. Limfosit dari organ Timus mencit pada perlakuan meniran hijau

Hasil penelitian jumlah isolasi dari organ timus, jumlah limfosit perlakuan baik ekstrak meniran hijau maupun merah dibawah dari kontrol positif. Jumlah limfosit pada perlakuan sebagian besar berbeda nyata dengan kontrol positif kecuali perlakuan meniran hijau dengan dosis 3x0,065 mg/hari. Jumlah limfosit pada kontrol positif atau kondisi sakit jumlahnya mengalami peningkatan hingga 10x lipat dari kondisi sehat (perlakuan kontrol negatif). Perlakuan meniran hijau berbeda secara nyata dengan kontrol negatif pada semua variasi dosis dengan jumlah lebih besar. Pada perlakuan meniran merah tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif hanya terdapat satu dosis pada 3x0,130 mg/hari yang nilainya dibawah dari kontrol negatif.

Limfosit pada mencit yang terinfeksi bakteri *Salmonella thypi* jumlahnya sangat besar. Jumlah ini cukup besar jika dibandingkan pada kondisi sehat/normal. Pengaruh pemberian ekstrak meniran merah maupun hijau memberikan hasil penurunan jumlah limfosit pada organ timus pada mencit yang terinfeksi *S.thypi*. Ekstrak meniran hijau mempunyai efek meningkatkan daya immunomodulator (Maat, 1997). Pada penelitian ini efek yang ditunjukkan dengan menurunkan jumlah limfosit pada organ Timus. Mengacu pada efek yang ditimbulkan pada meniran hijau, meniran merah memiliki kemampuan meningkatkan daya immunomodulator. Pemberian ekstrak meniran merah mampu memberikan dampak jumlah limfosit yang lebih kecil dari meniran hijau dan mendekati keadaan sehat. Efek yang berbeda dari kedua jenis meniran ini dimungkinkan adanya perbedaan senyawa secara kualitatif maupun kuantitatif.

Menurut Huang et al. (2010), senyawa yang terkandung pada meniran merah yang paling besar adalah *Corilagin*, kemudian *Gallic acid* dan *Ellagic acid*. Senyawa *Gallic acid* dan *Ellagic acid* yang berfungsi sebagai antiproliferasi dan menghambat *nuclear factor Kappa-β* pada sel kanker. Efek senyawa ini yang dimungkinkan mempengaruhi jumlah limfosit pada organ Timus. Keberadaan senyawa tersebut pada meniran hijau belum diketahui secara jelas. Selain senyawa tersebut, pada meniran merah dan hijau terdapat flavonoid. Senyawa ini yang berperan aktif dalam proses immunostimulator (Sharififar et al. 2009). Perbedaan efek yang ditimbulkan dari kedua jenis meniran merah dan hijau dimungkinkan juga berasal dari kuantitatif

dari senyawa flavonoid yang berbeda dari keduanya.

Adanya variasi dosis dalam pemberian meniran merah tidak berefek perbedaan secara nyata dalam menurunkan jumlah limfosit. Selisih jumlah limfosit yang dihasilkan dari ketiga variasi dosis tidak terlalu besar dan berada disekitar jumlah limfosit pada kondisi sehat. Pola kecenderungan penurunan jumlah limfosit bersifat fluktuatif dan jumlah terendah terdapat pada dosis 3x0,130 mg/hari sedangkan pada dosis yang lebih besar jumlah limfositnya lebih tinggi. Hal ini dimungkinkan titik terendah jumlah limfosit telah dicapai lebih cepat dan berangsur naik pada keadaan normal.

Pemberian ekstrak meniran hijau dan merah memberikan efek menekan respon proliferasi limfosit secara *in vivo* dalam organ timus. Penurunan jumlah limfosit kearah nilai pada kondisi sehat memberikan indikasi bahwa terdapat penguatan sistem imunitas dalam tubuh mencit. Berdasarkan hasil penelitian ini maka ekstrak meniran merah lebih menekan jumlah limfosit yang ada pada organ Timus dari pada meniran hijau.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak meniran merah berpengaruh menekan jumlah limfosit pada organ Timus mendekati jumlah limfosit keadaan sehat. Variasi dosis meniran merah dalam penelitian ini tidak mempengaruhi penurunan jumlah limfosit pada organ timus.

DAFTAR PUSTAKA

- Chularojmontri L, Suvara KW, Angkara H, Suphan C, Somchit N, Supatra S. 2005. Antioxidative and Cardioprotective effects of *Phyllanthus urinaria* L on Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Biol Pharm Bull* 28 (7): 1165-1171.
- Topik Hidayat, Kusumawaty D, Kusdianti K, Yati DD, Mughtar AA, Mariana D. 2008. Analisis Filogenetik Molekuler pada *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) Menggunakan Urutan Basa DNA Daerah Internal Transcribed Spacer (ITS). *Jurnal Matematika & Sains* 13 (1): 16-21.
- Ho Lai C, Shih HF, Yerra KR, Madamanchi G, Chih HT, Ying JL, Chien HH, Wen CW, Yew MT. 2008. Inhibition of *Helicobacter pylori*-induced inflammation in human gastric epithelial AGS cells by *Phyllanthus urinaria* extracts. *J Ethnopharmacol* (August): 522-526
- Huang ST, Jong HSP, Rong CY. 2010. Anti cancer of *Phyllanthus urinaria* and relevant mechanism. *Chang Gung Med J* 33: 477-487.

- Karuna R, Sreenivasa S, Baskar R, Saralakumari D. 2009. Antioxidant potential of aqueous extract of *Phyllanthus amarus* in rats. *Indian J Pharmacol* 41 (2): 64-67.
- Kresno SB. 1996. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi ketiga. Penerbit Fakultas Kedokteran Indonesia, Jakarta.
- Lans CA. 2006. Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus. *J Ethnobiol Ethnomed* 2: 45
- Lestari I.A, 2008. Pengaruh pemberian *Phyllanthus niruri* L terhadap respon imunitas seluler mencit balb/c yang diinfeksi dengan *Salmonella typhimurium*. [Tesis]. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro, Semarang
- Liu J, Lin H, McIntosh H. 2001. Genus *Phyllanthus* for chronic hepatitis B virus infection: a systematic review. *J Viral Hepat* 8 (5): 358-366.
- Maat S. 1997. *Phyllanthus niruri* L sebagai imunostimulator pada mencit. [Disertasi]. Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya.
- Radityawan D. 2005. Pengaruh *Phyllanthus niruri* sebagai imunomodulator terhadap kadar IFN- γ pada penderita tuberkulosis paru. *Dexa Media* 18: 946.
- Sharififar F, Shirin P, Moslem A. 2009. Immune modulatory activity of Aqueous extract of *Achillea wilhelmsii* C. Kock. in Mice. *Indian J Exp Biol* 47: 668-670.
- Sharma SK, Sheela MA, Deepak HB, Amit A, Chandrasekaran CV. 2011. Hepatoprotective activity of the *Phyllanthus* species on *tert*-butyl hydroperoxide (*t*-BH)-induced cytotoxicity in HepG2 cells. *Pharmacogn Mag* 7 (27): 229-233.