



DENTA

JURNAL KEDOKTERAN GIGI

Vol. 12 No. 2 August 2018
ISSN : 1907-5987

SUSUNAN REDAKSI

Editor in Chief

Widyasri Prananingrum

Executive Editor

Noengki Prameswari

Duty Editor

Agni Febrina Pargaputri, Dian Damaiyanti, Fitria Rahmitasari,
Widyastuti, Arya Barahmanta, Meinar Nur Ashrin,
Anne Agustina Suwargiani, Anis Irmawati, Nunuk Purwanti

Editorial Staff and Administrator

Carissa Endianasari, Fitri Puji Rahayu

Peer Review

Udijanto Tedjosongko, Son mee kyoung, Eha Renwi Astuti,
Syamsulina Revianti, Rima Parwatisari, Arifzan Razak, Sarianoferni,
Dian Mulawarmanti, Mei Syafriadi, Soetjipto

Jurnal Kedokteran Gigi diterbitkan setiap bulan Februari dan Agustus oleh
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah.

ALAMAT REDAKSI

Cp. Carissa Endianasari

Fakultas Kedokteran Gigi-Universitas Hang Tuah

Jl. Arief Rahman Hakim 150 Surabaya

Telp. 031-5945864, 5945894 psw 219/220 Fax. 031-5946261

E-mail: journal.denta@hangtuah.ac.id / jurnal.denta@gmail.com

<http://journal-denta.hangtuah.ac.id/>

DAFTAR ISI

Susunan Redaksi

Daftar Isi

Chitosan Antibacterial Of Portunus Pelagicus Against Biofilm Porphyromonas Gingivalis	82
<i>Laurencia Isabella Loekito, Yoifah Rizka, Fani Pangabdian</i>	
Effectivity of Haruan (Channa Striata) Extract to Total of Neutrophil in Wistar Traumatic Ulcer Healing of Rattus Novergicus Strain Wistar)	90
<i>Farhana Nur Fadhila, Isidora Karsini S, Nafi'ah</i>	
Influence of Cellulose Acetate Made From Sea Grass (Enhalus Acoroides) As Surface Coating Acrylic Resin Plates To The Total Colonize Candida albicans	98
<i>Enjel Arjuna Susru Wardana, Puguh Bayu Prabowo, Syamsulina Revianti</i>	
The antibacterial effect of anchovy (Stolephorus insularis) extract against Enterococcus faecalis	106
<i>Ilham Mahendra, Istien Wardani, Linda Rochyani</i>	
The Effect of Hyperbaric Oxygen Therapy to the Amount of Lymphocytes in Oral Candidiasis Immunosuppressed Model	117
<i>Agni Febrina Pargaputri, Dwi Andriani</i>	
The Influence of Ethanol Extract Graptophyllum pictum L. Griff toward Phagocytic Activity of Monocyte Exposed by Candida albicans	126
<i>Atik Kurniawati</i>	
Treatment on Distoverion of Upper Central Incisor and Transposition of the Maxillary Upper Right Canine and Lateral Incisor Orthodontic (Phase One)	134
<i>Eriza Juniar</i>	

RESEARCH ARTICLE

Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Ungu (EEDU) *Graptophyllum Pictum L. Griff* terhadap Aktivitas Fagositosis Monosit yang dipapar *Candida Albicans*

(The Influence of Ethanol Extract Graptophyllum pictum L. Griff toward Phagocytic Activity of Monocyte Exposed by Candida albicans)

Atik Kurniawati

Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Jember University, Indonesia.

ABSTRAK

Background: Candidiasis is one of oral infectious disease caused by *Candida albicans*. The role of *C. albicans* as pathogen opportunistic in oral infection can be affected by immune system. Phagocytosis has contributed in immune system against *C. albicans* infection, which is the role of monocytes. *Graptophyllum L. Griff* has been proved to increase macrophage's phagocytic activity, but the effect of violet leaves ethanol extract (EEDU) to increase monocyte's phagocytic activity on *C. albicans* is unknown. **Objectives:** To determine the effect of violet leaves extract on monocyte's phagocytic activity on *C. albicans*. **Methods:** This research was acted in vitro on human monocyte cell culture. There was 5 groups: negative control group, positive control group (incubated in Isoprinosine) and treatment groups was incubated in EEDU 2,5%, 5%, 10%. The percentage of activated monocytes was counted. **Result:** The result showed that incubation of EEDU 2,5%, 5% and 10% could increase monocyte's phagocytic activity significantly ($p < 0,05$) compared to control groups. The number of monocyte's phagocytosis on *C. albicans* incubated with EEDU 2,5%, 5% and 10% is 65%, 60,5%, and 58,75%. The optimal concentration of EEDU to increase monocyte's phagocytic activity was 2,5%. **Conclusion:** The study showed that EEDU can increase monocyte's phagocytic activity on *C. albicans*.

Keywords: Ethanol extract of *Graptophyllum pictum L. Griff* leaves, Monocyte's Phagocytic Activity, *Candida albicans*.

Correspondence: Atik Kurniawati. Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Jember University, Indonesia. Email: atik040271@gmail.com

ABSTRACT

Latar belakang: Kandidiasis merupakan salah satu penyakit infeksi rongga mulut yang disebabkan *C. albicans*. Sebagai patogen oportunistik, *C. albicans* dapat menginfeksi rongga mulut bila terjadi penurunan sistem imun. Fagositosis berkontribusi dalam sistem imun melawan infeksi *C. albicans*, yang diperankan oleh sel fagosit seperti monosit. Ekstrak etanol daun ungu diketahui dapat meningkatkan fungsi fagositosis monosit, namun perannya untuk meningkatkan fagositosis monosit pada infeksi *C. albicans* belum diketahui. **Tujuan:** Mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun ungu (EEDU) terhadap aktivitas fagositosis monosit yang dipapar *C. albicans*. **Metode:** Penelitian ini dilakukan secara invitro pada kultur sel monosit yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu: kelompok negatif, kelompok positif (diinkubasi Isoprinosin) dan kelompok perlakuan EEDU 2,5%, 5% dan 10%. Jumlah persentase monosit aktif dihitung dan dibandingkan antara kelompok perlakuan dan kontrol. Data hasil dianalisis dengan uji one way anova dan LSD. **Hasil:** EEDU 2,5%, 5% dan 10% secara signifikan ($p < 0,05$) dapat meningkatkan aktivitas fagositosis monosit dibandingkan dengan kelompok kontrol. Jumlah persentase aktivitas fagositosis monosit pada EEDU 2,5%, 5% dan 10% yaitu 65%, 60,5% dan 58,75%. Konsentrasi optimal dalam meningkatkan aktivitas fagositosis monosit yaitu 25%. **Kesimpulan:** EEDU dapat meningkatkan aktivitas fagositosis monosit terhadap *C. albicans*.

Kata kunci: Ekstrak Etanol Daun Ungu, aktivitas fagositosis monosit, *C. albicans*.

Korespondensi: Atik Kurniawati. Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Jember University, Indonesia. Email: atik040271@gmail.com

PENDAHULUAN

Candidiasis adalah infeksi jamur yang paling umum terjadi di rongga mulut [1]. *Candidiasis* umumnya disebabkan oleh jamur *Candida albicans*. *C. albicans* adalah mikroorganisme komensal di rongga mulut individu sehat yang berubah menjadi patogen pada kondisi yang dipengaruhi oleh faktor lokal maupun sistemik [2]. Faktor predisposisi utama yang menyebabkan perubahan *C. albicans* yang bersifat komensal menjadi patogen adalah menurunnya daya tahan tubuh (imunitas) spesifik maupun non spesifik sehingga menyebabkan *Candidiasis* [3].

Imunitas nonspesifik merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*) yang berfungsi memberikan respons dini terhadap patogen dan memegang peranan penting dalam menginduksi respons imun spesifik.

Salah satu upaya yang dilakukan sistem imun nonspesifik dalam mempertahankan diri terhadap masuknya antigen yaitu dengan cara menghancurkan antigen melalui proses fagositosis [4]. Fagositosis merupakan proses fisiologis yang penting dimana monosit maupun makrofag, neutrofil, dan sel-sel radang lain aktif menelan dan menghancurkan mikroorganisme asing maupun sel apoptosis dan partikel abnormal dalam tubuh [5].

Monosit adalah salah satu sel fagosit profesional yang memperantarai pertahanan *host* terhadap *C. albicans* melalui mekanisme fagositosis. Monosit menghasilkan sitokin dan kemokin yang dapat meningkatkan kemotaksis, fagositosis, dan aktivitas mikrobisida, serta mengaktivasi sel T melalui pemrosesan dan pengenalan terhadap antigen [6]. Monosit memiliki *mannose receptor* dan *glucan receptor*

yang berperan dalam proses adhesi, yaitu dengan cara berikatan dengan *mannan* atau *glucan* yang merupakan penyusun lapisan dinding sel *C. albicans* [7].

Aktivitas fagositosis dapat dipengaruhi oleh obat-obatan, salah satunya adalah inosiplex. Inosiplex yang lebih dikenal dengan nama isoprinosin (ISO) merupakan bahan sintesis yang mempunyai efek antivirus dan imunomodulator. Namun pemakaian isoprinosin dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping yaitu peningkatan kadar asam urat plasma [8]. Peningkatan kadar asam urat dalam darah (hiperurisemia) yang lanjut dapat berkembang menjadi *gout*. Hiperurisemia berisiko tinggi terhadap beberapa gangguan seperti artritis *gout*, batu ginjal, kerusakan ginjal, serta tekanan darah tinggi [9]. Fakta ini memicu peneliti untuk menemukan bahan alami dengan efek samping minimal yang diketahui memiliki efek imunomodulator dan dapat digunakan sebagai ajuvan pada kasus-kasus infeksi jamur..

Daun ungu merupakan salah satu tanaman obat tradisional Indonesia. Daun ungu (*Graptophyllum pictum*) termasuk dalam daftar 66 komoditas tanaman biofarmaka yang ditetapkan melalui Surat Keputusan Menteri Pertanian Nomor : 511/Kpts/PD.310/9/2006. Masyarakat Indonesia menggunakan tanaman ini untuk mengobati bengkak, bisul, wasir dan untuk melancarkan menstruasi [10]. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L) Griff) mempunyai daya antimikobakterial terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv secara *in vitro* serta mempunyai aktivitas imunomodulator pada

mencit terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv [11].

Kusumawati dkk., (2002) meneliti tentang pengaruh ekstrak etanol daun ungu terhadap fungsi fagositosis serta pembentukan immunoglobulin M dan TNF- α pada makrofag mencit [12]. Keamanan daun ungu telah dibuktikan oleh beberapa peneliti melalui uji toksisitas akut dan uji toksisitas subkronik. Ekstrak etanol daun ungu memiliki nilai toksisitas akut yang rendah pada mencit yang diberikan secara per oral, tetapi harus diteliti lebih lanjut pada pemakaian yang lebih lama [13]. Melalui uji toksisitas sub kronik selama tiga bulan, pemberian ekstrak etanol daun ungu pada mencit dinyatakan aman dan mampu meningkatkan daya hidup mencit [14]. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun ungu terhadap aktivitas fagositosis monosit yang dipapar *C. albicans*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bahwa penggunaan suatu bahan alam (tanaman) memungkinkan untuk digunakan sebagai bahan yang mampu memodulasi respons imun (imunomodulator) terutama pada kasus infeksi jamur di rongga mulut khususnya *oral candidiasis*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris secara *in vitro*, dengan perlakuan berupa inkubasi EEDU pada kultur sel monosit dan pemaparan *C. albicans*. Daun ungu yang digunakan adalah *Graptophyllum pictum* L. Griff yang telah diidentifikasi oleh Bagian Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Jember melalui Surat

Keterangan Identifikasi No 2610/UN25 1.9TU/2016 tanggal 28 September 2016. rancangan penelitian yaitu *post test only control group design*. Terdapat 4 sampel masing-masing dalam 5 kelompok yaitu: kelompok kontrol negatif (K-), kelompok kontrol positif (K+) yang diinkubasi dengan Isoprinisin dan kelompok perlakuan (P1, P2, P3) yang diinkubasi dengan EEDU 2,5%, 5% dan 10%.

Prosedur penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan nomor 893/H25.111/KE/2016. Kultur monosit diambil dari darah vena perifer orang sehat yang tidak merokok, tidak mempunyai penyakit sistemik dan kelainan darah, serta telah menandatangani *informed consent*. Isolasi monosit menggunakan teknik *gradient density*. Bahan uji yang digunakan yaitu daun ungu tua yang dibuat ekstrak dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan diencerkan dengan konsentrasi 2,5%, 5% dan 10%.

Penelitian diawali dengan pembuatan isolat monosit dari darah vena perifer. Isolat monosit kemudian dilapiskan pada coverslip, masing-masing *well* 100 μ l, sesuai dengan jumlah sampel. Selanjutnya inkubasi dengan EEDU 2,5%, 5% dan 10% pada kelompok perlakuan (P1, P2, P3) dan pemberian Isoprinisin pada kelompok kontrol positif (K+). Sedangkan kelompok kontrol negatif tanpa pemberian apapun.

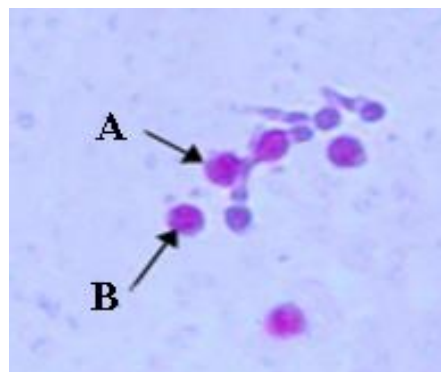
Inkubasi dilakukan selama 18 jam dalam *incubator shaker*. Selanjutnya pemaparan *C. albicans* dan inkubasi selama 5 jam. Kemudian dilakukan fiksasi dan pengecatan menggunakan Giemsa. Pengamatan dan

penghitungan monosit yang aktif melakukan fagositosis dilakukan dengan mikroskop *inverted* pembesaran 400 kali. Sebagai unit analisisnya berupa prosentase jumlah monosit aktif dari 100 sel yang dihitung pada masing-masing sumuranl.

Data hasil penelitian dianalisis dengan program Seri Program Statistik (SPSS) menggunakan Analisis of Varian (Anova) dengan $p < 0,05$ untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun ungu terhadap aktivitas fagositosis monosit yang dipapar *C. albicans*. Analisis dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui perbedaan konsentrasi EEDU terhadap aktivitas fagositosis monosit yang dipapar *C. albicans* dibandingkan kontrol.

HASIL PENELITIAN

Hasil pengamatan menunjukkan monosit pasif dan monosit aktif yang memfagosit *C. albicans* (Gambar 1). Hasil penghitungan menunjukkan monosit pada kelompok P1 yaitu monosit yang diinkubasi dengan EEDU 2,5% memiliki jumlah persentase fagositosis paling tinggi dibanding kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lainnya. Sedangkan kelompok kontrol negatif memiliki jumlah persentase fagositosis paling rendah. Indeks fagositosis monosit disajikan dalam Tabel 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Gambaran mikroskopik monosit

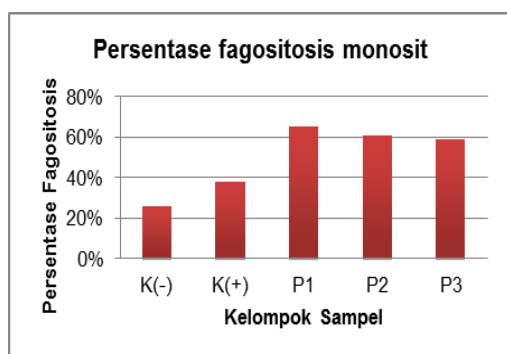
Keterangan:

A : Monosit aktif.

B : Monosit pasif (Perbesaran 400x).

Tabel 1. Hasil penghitungan Indeks fagositosis monosit

Kelompok	Indeks Fagositosis	St. Deviasi
K(-)	25,75%	0.04
K(+)	38%	0.12
P1	65%	0.06
P2	60,5%	0.05
P3	58,75%	0.07

Keterangan :K(-) : Monosit + + *C. Albicans* (kontrol negatif)K(+): Monosit + Isoprinosin+ *C. Albicans*(kontrol positif)P1 : Monosit + EEDU 2,5% + *C. albicans*P2 : Monosit + EEDU 5% + *C. albicans*P3 : Monosit + EEDU 10% + *C. albicans***Gambar 2.** Diagram rerata fagositosis monosit**Keterangan :**K(-) : Monosit + + *C. Albicans* (kontrol negatif)K(+): Monosit + Isoprinosin+ *C. Albicans*(kontrol positif)P1 : Monosit + EEDU 2,5% + *C. albicans*P2 : Monosit + EEDU 5% + *C. albicans*P3 : Monosit + EEDU 10% + *C. albicans*

Hasil uji *one way anova* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan diantara persentase fagositosis monosit keenam kelompok ($p < 0,05$). Uji LSD menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan (EEDU 2,5%, 5% dan 10%) dengan kelompok kontrol (negatif dan positif) ($p < 0,05$). Namun tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p > 0,05$).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun ungu terhadap aktivitas fagositosis monosit yang dipapar *C. albicans*. Hasil penghitungan menunjukkan jumlah rata-rata fagositosis monosit terhadap *C. albicans* pada kelompok perlakuan (pemberian ekstrak etanol daun ungu 2,5%, 5% dan 10%) lebih banyak apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif. Hal ini ditunjukkan dengan peningkatan jumlah monosit yang aktif melakukan aktivitas fagositosis. Persentase rerata fagositosis monosit pada kelompok perlakuan dari yang tertinggi sampai yang terendah yaitu, kelompok ekstrak etanol daun ungu 2,5%, 5% dan 10%.

Mekanisme fagositosis monosit terhadap *C. albicans* diawali dengan proses pengenalan melalui reseptor pada permukaan sel monosit, yaitu MR (*Mannose Receptor*), *Dectin-1*, *Toll-*

like Receptor (TLR) 2, TLR4, TLR6 dan TLR9. MR, TLR2, TLR4, dan TLR6 akan berikatan dengan *mannan* dan *mannoprotein*, yang merupakan penyusun lapisan luar dinding sel *C. albicans*. *Dectin-1* akan berikatan dengan β -*glucan* dalam dinding sel *C. albicans*. Sedangkan TLR9 akan mengenali asam nukleat sitoplasma dan *chitin* pada dinding sel *C. albicans*. [15,16, 17]. Setelah terjadi pengenalan, monosit akan menelan patogen dengan membentuk pseudopodia (kaki semu) yang akan mengelilingi patogen tersebut, sehingga patogen akan terkurung dalam fagosom (vakuola fagositik) [15].

Kandungan polifenol, flavonoid dan alkaloid yang terkandung dalam daun ungu dapat meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi. Sitokin tersebut akan berikatan pada reseptor sel target, yaitu sel yang memproduksinya (*autocrine action*) atau sel lain yang berdekatan (*paracrine action*). Produksi sitokin tersebut akan meningkatkan endositosis dan fagositosis oleh monosit [11]. Sitokin juga dapat meningkatkan potensi membunuh oleh makrofag/monosit dengan menstimuli enzim lisosom melalui percepatan respirasi serta meningkatkan reseptor fagosit [12].

Kandungan polifenol, flavonoid, alkaloid dan tannin dalam daun ungu juga bersifat sebagai antioksidan. Antioksidan berperan dalam melindungi sel dari mekanisme oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas seperti peroksida, hidroperoksida atau peroksida lipid [13]. Dimana dalam mekanisme fagositosis, melalui jalur oksidatif, sel fagosit distimulasi untuk mengeluarkan oksidan seperti

superoksida (O_2^-) dan hidrogen peroksida (H_2O_2) dari oksigen, myeloperoksidase dan NADPH atau NADH yang dapat berinteraksi kemudian menghasilkan metabolit oksigen yang toksik, sehingga dapat digunakan untuk membunuh patogen [14]. Hal tersebut berpotensi menimbulkan *oxidative stress*, yaitu keadaan dimana tingkat oksigen reaktif intermediate (ROI) yang toksik melebihi pertahanan antioksidan endogen. Keadaan ini mengakibatkan kelebihan radikal bebas, yang akan beraksi dengan lemak, protein dan asam nukleat seluler. Kerusakan yang terjadi pada sel tersebut akan mengakibatkan sel mengalami lisis [15].

Pengamatan menunjukkan jumlah monosit yang mengalami lisis paling banyak ditemukan pada kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok yang lain. Hal tersebut diduga karena tidak adanya kandungan antioksidan pada kelompok kontrol negatif. Tingkat oksigen reaktif intermediate (ROI) yang melebihi kadar antioksidan endogen ditambah virulensi jamur yang tinggi memungkinkan terjadinya lisis pada monosit. Sedangkan pada kelompok perlakuan, jumlah monosit yang lisis paling banyak ditemukan pada kelompok ekstrak 10%. Hal ini diduga bahwa toksisitas ekstrak yang semakin besar pada kelompok ekstrak 10% dapat menyebabkan kerusakan pada sel. Hal ini didukung oleh penelitian Asti (2015) yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kopi pada dosis yang tinggi dapat meningkatkan jumlah sel monosit yang lisis sehingga menurunkan aktivitas fagositosis monosit [15,16,17].

Jika dibandingkan dengan isoprinosin, ekstrak daun ungu mempunyai efek yang lebih baik. Karena Isoprinosin yang selama ini umum digunakan sebagai immunomodulator sintesis, ternyata mempunyai efek samping seperti gatal, pusing serta masalah pencernaan. Isoprinosin juga dapat memicu reaksi alergi pada beberapa individu. Isoprinosin kemungkinan juga dapat menyebabkan penurunan jumlah sel darah putih pada individu yang mengonsumsi ribavirin. Lebih lanjut, pemakaian isoprinosin dalam jangka panjang dapat menyebabkan peningkatan kadar asam urat plasma [18]. Kelebihan lain dari ekstrak daun ungu dibandingkan dengan isoprinosin yaitu potensinya sebagai antijamur. Ekstrak daun ungu dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans*, diduga melalui mekanisme denaturasi protein sel jamur dan kerusakan membran sel jamur [28].

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian bahwa ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff) dapat meningkatkan aktivitas fagositosis monosit yang dipapar *C. albicans*. Disarankan, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai komponen utama daun ungu yang berpengaruh terhadap peningkatan aktivitas fagositosis monosit. Perlu dilakukan juga pengujian lebih lanjut mengenai aplikasi ekstrak daun ungu dalam pengobatan *Candidiasis*. Disarankan juga untuk penambahan obat immunomodulator pada terapi *Candidiasis*, disamping pengobatan dengan antijamur.

DAFTAR PUSTAKA

1. Newman, Takei, Klokkevold, Carranza. Carranza's clinical periodontology. 11th ed. St. Louis: Elsevier Inc; 2012.
2. Regezi JA, Sciubba JJ, Jordan RCK. Oral pathology: clinical pathologic correlations. 4th Edition. St. Louis: Saunders; 2003.
3. Jawetz, Melnick, Adelberg. Mikrobiologi kedokteran. Edisi 23. Jakarta: EGC; 2007.
4. Ratnawati H, Handoko Y, Purba LH. Pengaruh pemberian ekstrak buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) terhadap aktivitas fagositosis makrofag. JKM. 2007; 7(1):04-01.
5. Wahyukundari MA. Laporan hasil penelitian dosen pemula Aktivitas fagositosis neutrofil dan monosit yang dipapar ekstrak daun binahong. Jember: FKG UNEJ; 2013.
6. Ashman RB, Papadimitriou JM. Production and function of cytokines in natural and acquired immunity to *Candida albicans* infection. *Microbiology Rev.* 1995; 59 (4): 672-646.
7. Vázquez-Torres A, Balish A. Macrophages in Resistance to Candidiasis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1997; 61(2):192-170.
8. Krewer, Suleiman, Duarte, Ribeiro, Mostardeiro, Montano, Rocha, Algarve, Bresciani, Cruz. Guarana, a supplement rich in caffeine and catechin, modulates cytokines: evidence from human in vitro and in vivo protocols. *Eur. Food Res. Tech nol.* 2014; 239; 57-49.
9. Lyu SY, Park WB. Production of Cytokine and NO by RAW 264.7 Macrophages and PBMC In Vitro Incubation with Flavonoids. *Arch Pharm Res.* 2005; 28(5): 581-573.
10. Heyne, Atlas Tumbuhan Indonesia, Penebar Swadaya, Jakarta; 1986. h.6-34.
11. Kurniawati A, Ekspresi TLR-2, TNF-alpha, IFN-gamma, dan TGF-beta Pada Mencit terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Perbaikan Jaringan Paru Mencit dengan Pemberian Ekstrak Metanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff), Disertasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya; 2014.
12. Kusumawati I, Pengaruh ekstrak etanol daun ungu terhadap fungsi fagositosis serta pembentukan imunoglobulin M dan TNF alpha pada mencit, Disertasi, Fakultas Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya; 2002. h.32-64.
13. Dada-Olagbende, SO. SO Ogbonia, HAB Coker and GE Ukpo. Blood glucose lowering effect of aqueous extract of

- Graptophyllum pictum (Linn) Griff. On aloxan-induced diabetic rats and its acute toxicity in mice, *African Journal of Biotechnology*. 2011; 10(6): h.1039-43.
14. Zhao, Yang, Wang, Liu, Jian. Immunomodulatory and anticancer activities of flavonoids extracter from litchi (*Litchi chinesis Sonn.*) pericarp. *International Immunopharmacology*. 2007; 7: 166-162.
15. Asti SIP. Skripsi Pengaruh ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*) terhadap aktivitas fagositosis sel monosit. Jember: FKG UNEJ; 2015.
16. Natea, Brown, Kullberg, Gow. An integrated model of the recognition of *Candida albicans* by immune system. *Microbiology*. 2008; 6: h. 78-67.
17. Natea, Joosten, Meer, Kulberg, Veerdonk. Immune defence against *Candida* fungal infections. *Immunolog* ; 2015. h. 1-13.
18. Nayeem N, Denny G, Mehta SK. Comparative Phytochemical Analysis, Antimicrobial and Antioxidant Activity of The Methanolic Extracts of The Leaves of Coffea Arabica and Coffea Robusta. *Der Pharmacia Lettre*. 2005; 3 (1): 297-292.