
PERAN SENYAWA BUAH MENGGUDU (*Morinda citrifolia*) TERHADAP EKSPRESI CD62L PADA LIMPA MENCIT YANG DIBERI PAPARAN *Staphylococcus aureus*

Dia Faroka, Sri Rahayu, Muhaimin Rifa'i

Progam Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
Universitas Brawijaya, Malang
vamazika@yahoo.com

Abstrak

S. aureus dapat menyebabkan penyakit toxic shock syndrome, endokartitis, osteomyelitis, pneumonia, sepsis, serta penyakit meningitis. Superantigen bakteri ini dapat mempengaruhi sistem imun melalui sekresi sitokin proinflamasi secara besar-besaran. Resistensi *S. aureus* terhadap vancomycin, mendorong masyarakat untuk mencari obat alternatif yang berasal dari bahan alam, yaitu tanaman obat tradisional. Salah satu tanaman obat tradisional yang memiliki potensi sebagai anti mikroba, anti kanker, anti inflamasi dan antioksidan adalah buah mengkudu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran senyawa dari ekstrak air buah mengkudu terhadap ekspresi $CD4^+CD62L^+$ (sel T naif) dan $CD4^+CD62L^-$ (sel T memori) pada limpa mencit yang diberi paparan *S. aureus*. Pada penelitian ini, mencit dibagi menjadi 2 kelompok yaitu infeksi dan non infeksi. Kedua kelompok tersebut diberi ekstrak air *M. citrifolia* dengan dosis berturut-turut 25 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB selama 20 hari kemudian diinfeksi *S. aureus* sebanyak 1×10^9 sel. Pengamatan jumlah relatif sel $CD4^+CD62L^+$ dan $CD4^+CD62L^-$ dianalisis menggunakan flow cytometry melalui program CellQuest dan dilakukan uji statistik ANOVA RAL faktorial dan uji BNJ melalui program SPSS 16. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, pada kelompok non infeksi pemberian dosis 25 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan kontrol normal, sedangkan dosis 300 mg/kgBB terjadi penurunan sel T naif ($P < 0.05$). Sel T naif pada kontrol infeksi mengalami penurunan dibandingkan kontrol normal ($P < 0.05$). Sel T memori pada kontrol infeksi mengalami peningkatan dibandingkan kontrol normal ($P < 0.05$) Pada kelompok infeksi dosis 100 mg/kgBB mampu menurunkan jumlah sel T memori ($P < 0.05$).

Kata kunci : *Morinda citrifolia*, *Staphylococcus aureus*, $CD4^+CD62L^+$, $CD4^+CD62L^-$.

Abstract

S. aureus can cause diseases such as toxic shock syndrome, endokartitis, osteomyelitis, pneumonia, sepsis, and meningitis. The bacterial superantigen can affect the immune system through the secretion of proinflammatory cytokines massively. Resistance *S. aureus* against vancomycin, is encouraged people to seek for alternative drugs derived from natural materials, namely traditional medicinal plants. One of the traditional medicinal plants that have potential as anti-microbial, anti-cancer, anti-inflammatory and antioxidant is noni fruit. The purpose of this research to determine the role of compound extract of noni juice on the expression of $CD4^+CD62L^+$ (naive T cells) and $CD4^+CD62L^-$ (memory T cells) in the spleen of mice that were given exposure to *S. aureus*. In this research, mice were divided into 2 groups: infectious and non-infectious. Both groups were given water extract *M. citrifolia* with successive doses of 25 mg/kgBW, 100 mg/kgBW, and 300 mg/kgBW for 20 days and then infected with *S. aureus* as many as 1×10^9 cells. Observations relative number $CD4^+CD62L^+$ cells and $CD4^+CD62L^-$ analyzed using flow cytometry and CellQuest program, and statistical test CRD factorial ANOVA and HSD test through SPSS 16 program. The results showed that, in the group of non-infectious dose 25 mg/kgBW and 100 mg/kgBW was not significantly different from normal controls, whereas doses of 300 mg/kgBW decreased naive T cells ($P < 0.05$). Naive T cells in the control infection decreased compared to normal controls ($P < 0.05$). Memory T cells on infection control increased compared to normal controls ($P < 0.05$) On group infection dose of 100 mg/kgBW can reduce the number of memory T cells ($P < 0.05$).

Key words : *Morinda citrifolia*, *Staphylococcus aureus*, $CD4^+CD62L^+$, $CD4^+CD62L^-$.

Pengantar

S. aureus merupakan bakteri gram positif, bersifat patogen yang bertempat didaerah kulit, saluran pencernaan dan hidung (Lindberg *et al.*, 2004). Bakteri ini juga menyebabkan terjadinya penyakit pneumonia sebesar 2% dan 10% nosokomial pneumonia, sedangkan untuk tingkat kematian nosokomial pneumonia mencapai 30%-80% (Kaye *et al.*, 1990). *S. aureus* juga menyebabkan berbagai macam penyakit seperti selulitis, keracunan makanan, *toxic shock syndrome*, endokartitis, osteomyelitis, sepsis (Lowy, 1998)

Faktor virulen *S. aureus* berupa leukocidin yang masuk kedalam jaringan dapat mematikan sel-sel darah putih (Jawetz *et al.*, 1996). Sedangkan Superantigen *S. aureus* merupakan antigen yang bersifat mitogen terhadap kerja sel T melalui ikatan yang spesifik pada bagian V β dari T cell reseptor (TCR) (Llewelyn, 2002). Ikatan tersebut menyebabkan terjadinya sekresi sitokin proinflamasi T helper-1 (Th1) secara besar-besaran seperti, *Tumor necrosis factor* (TNF)- α , Interleukin-6 (IL-6) dan Interferon- γ (IFN- γ). Ketidakseimbangan aktivitas sitokin proinflamasi bertanggung jawab terhadap fisiopatologi dari (STSS) (McCormick *et al.*, 2001; Steven, 1997).

Meningkatnya resistensi *S. aureus* terhadap antibiotik seperti penicillin, methisilin, quinolone dan vancomycin, mendorong masyarakat untuk mencari tanaman obat. Tanaman obat memiliki penting terhadap perkembangan obat terbaru, karena lebih efektif, efek sampingnya lebih kecil, dan harga lebih murah dibandingkan obat sintetik (Raj *et al.*, 2011). Salah satu tanaman obat yang dapat digunakan untuk menjaga kesehatan adalah buah mengkudu. Buah mengkudu memiliki potensi sebagai anti mikroba, anti kanker, anti inflamasi dan antioksidan (Wang *et al.*, 2002). Senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid pada buah mengkudu dengan tingkat kematangan yang berbeda, dapat berperan sebagai anti bakteri (Ramesh *et al.*, 2012). Scopoletin buah mengkudu juga berfungsi sebagai antibakteri (Duncan *et al.*, 1998). Buah mengkudu dapat meningkatkan imunitas sel dan meningkatkan aktivitas makrofag untuk melawan pertumbuhan tumor (Hirazumi and Furusawa, 1999) Sedangkan juice dari buah mengkudu dapat bersifat sebagai anti inflamasi (Su *et al.*, 2001). Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk

mengetahui peran senyawa buah mengkudu terhadap jumlah relatif dari sel TCD4⁺CD62L⁺ (sel T naif) dan sel TCD4⁺CD62L⁻ (sel T memori) pada limpa mencit yang diinfeksi *S. aureus*.

Bahan dan Cara Kerja

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial. Kriteria mencit yaitu, strain DDY, betina, berumur 6 minggu, sebanyak 32 ekor. Hewan coba mencit telah mendapatkan sertifikat kelaikan etik no.112-KEP-UB. Mencit diaklimasi selama 1 minggu kemudian diberi perlakuan. Terdapat 2 kelompok, yaitu kelompok infeksi dan kelompok non infeksi. Kedua kelompok tersebut diberi perlakuan ekstrak air buah mengkudu selama 20 hari, kemudian diinfeksi *S. aureus* pada kelompok infeksi. Pada masing-masing kelompok terdapat 4 perlakuan, dengan 3 ulangan. Kontrol normal kelompok non-infeksi diberi aquades tanpa diinfeksi *S. aureus*, sedangkan kontrol positif kelompok infeksi diberi aquades dan diinfeksi dengan *S. aureus*.

Pembuatan Ekstrak air buah Mengkudu.

Tumbuhan mengkudu berumur 2 tahun. daging buah di oven pada suhu 50°C, selama 5 hari, di blender menjadi serbuk halus, diayak sehingga diperoleh simplisia. 5 gram simplisia dilarutkan dengan 50 ml aquades, dipanaskan hingga mencapai suhu 80°C, kemudian dipertahankan selama 15 menit (Arifiandari dan Condro, 2007). Dilakukan penyaringan dengan kertas saring, hasil penyaringan merupakan crude ekstrak yang diberikan berdasarkan dosis yang ditentukan. Dosis ekstrak buah mengkudu yang aman untuk manusia 500-1000 mg per hari (Murray, 2000) dan dikonversikan pada mencit dengan cara mengalikan 0.0026 (berat badan mencit 20 mg). Dosis yang digunakan, 25 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 300 mg/kgBB. Dosis yang diberikan kepada mencit dihitung terlebih dahulu sesuai dengan berat badan mencit. Dosis diberikan sekali setiap hari, dicekockan secara oral menggunakan sonde lambung selama 20 hari.

Infeksi *S.aureus*.

Menginokulasikan 4 ml stok kultur bakteri *S. aureus* didalam media *nutrient Broth* (NB) sampai 40 ml kemudian di shaker. Pada jam ke-8 (fase log bakteri), diambil 1 ml kultur dimasukkan kedalam ependof dan disentrifuse dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit

dengan suhu 25°C. Hasil dari sentrifuse, supernatan dibuang, pellet ditambahkan 100 ul PBS dan diinfeksi kedalam mencit. Jumlah bakteri *S. aureus* yang diinfeksi 1 x 10⁹ sel. Infeksi dilakukan pada hari ke-21 setelah pemberian ekstrak air buah mengkudu. Infeksi dilakukan secara Intraperitoneal menggunakan *syringe* dengan ukuran 21 ½G. Pembedahan mencit dilakukan setelah 5 hari infeksi. Proses imunitas adaptif pada umumnya bekerja 4-7 hari setelah terjadinya infeksi (Rifa'i, 2011).

Isolasi sel dan analisis *flow cytometry*.

Jumlah relatif CD4⁺CD62L⁺ (sel T naif) dan CD4⁺CD62L⁻ (sel T memori) diperoleh dari isolasi sel limpa. Untuk memperoleh sel dari limpa, yaitu organ dipencet dengan pangkal spuit kemudian difilter menggunakan wire. Sel-sel limfosit dari limpa dilarutkan dalam PBS sampai 6 ml, kemudian disentrifus dengan kecepatan 2500 rpm pada suhu 4°C selama 5 menit. Supernatan dibuang dan pellet diresuspensi dengan PBS 1 ml, dipipeting untuk mendapatkan homogenat. Kemudian diambil 100 µl homogenat, dimasukkan ke dalam tabung ependorf yang sudah berisi 500 µl PBS. Setelah itu dilakukan sentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm, suhu 4°C selama 5 menit. Pelet yang diperoleh ditambahkan *rat anti-mouse anti-CD4⁺ FITC conjugated*, dan *rat anti-mouse anti CD62L⁺ PE conjugated* sebanyak 50 ul, diinkubasi selama 30 menit pada suhu 4°C dalam kondisi gelap. Pelet yang diberi antibodi ditambah 300 µl PBS dipipeting dan dipindah ke dalam tabung *flow cytometry*. Mesin *flow cytometry* di setting sesuai pewarnaan dan sampel yang diidentifikasi.

Analisis data hasil *flow cytometry* dan Analisis Statistik.

Data hasil analisis *flow cytometry* dengan menggunakan program *CellQuest* untuk Machintosh. Data yang dihasilkan berupa jumlah relatif CD4⁺CD62L⁺ (sel T naif) dan CD4⁺CD62L⁻ (sel T memori). Kemudian jumlah relatif sel tersebut dianalisa secara statistik menggunakan uji ANOVA RAL Faktorial dan uji lanjut BNJ dengan menggunakan program SPSS 16.

Uji Konfirmasi *S. aureus* di dalam darah mencit.

Uji konfirmasi dilakukan pada hari ke-22 setelah setelah injeksi pada hari ke-21. Darah diambil melalui ekor mencit sebanyak ± 50 µl dan diletakkan didalam eppendorf, kemudian ditambah dengan 450 µl NaCl fis 0.9%. Kemudian darah yang sudah tercampur dengan NaCl-fis, kemudian diinokulasi pada 4.5 ml media NB didalam tabung reaksi. Kemudian dilakukan inkubasi pada shaker dengan suhu 37°C, 120 rpm selama 36 jam. Setelah dilakukan inkubasi, maka dilakukan penanaman pada media *Mannitol salt agar* (MSA). Diambil sebanyak ± 2 ml cairan hasil inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. *S. aureus* merubah warna media dari merah menjadi kuning.

Hasil

Berdasarkan hasil uji konfirmasi *S. aureus* dengan media MSA, terjadinya perubahan dari warna media tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa mencit telah terinfeksi oleh bakteri *S. aureus*. Bakteri tersebut dapat tumbuh pada media dan terjadi fermentasi Mannitol, sehingga warna media berubah dari warna merah menjadi kuning (Beishir, 1991). Warna koloni yang terbentuk pada *S. aureus* dapat bervariasi antara lain putih, kuning dan oranye dimana hanya strain *S. aureus* yang berasal dari sapi dan manusia yang memiliki koloni berwarna kuning keemasan (Purnomo dkk., 2006) (Gambar.1)

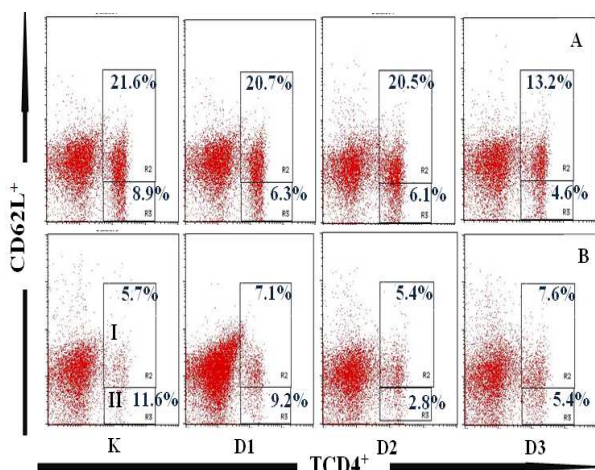


Gambar 1. Uji *S. aureus* didalam darah menggunakan media MSA (**A** = media MSA tanpa inokulasi *S. aureus* dan **B** = media MSA yang telah diinokulasi dengan *S. aureus*, terjadi perubahan dari merah menjadi kuning)

Jumlah Relatif Sel T Naif ($CD4^+CD62L^+$) dan sel T memori ($CD4^+CD62L^-$) pada Limpa.

Sel T naif ($CD4^+CD62L^+$) adalah sel limfosit matang yang meninggalkan timus, belum berdiferensiasi dan belum terpapar dengan antigen. Sel T naif yang diaktifkan akan berdiferensiasi menjadi sel efektor dan sel memori yang dapat menetap di organ limfoid atau bermigrasi ke kelenjar nonlimfoid (Baratawidjaja dan Rengganis, 2006). Menurut Abbas dan Lichtman (2005), diferensiasi dari sel T naif pada organ limfoid perifer diikuti dengan perubahan beberapa molekul adhesi. CD62L atau L-selektin adalah molekul permukaan limfosit yang berperan pada homing limfosit.

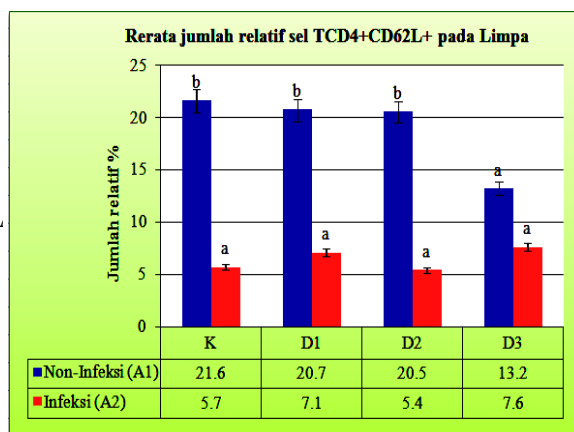
Berdasarkan hasil analisis *flow cytometry* dengan program *CellQuest* (Gambar 2), menunjukkan bahwa kelompok non infeksi, jumlah relatif sel $TCD4^+CD62L^+$ pada pemberian dosis 25mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB sebesar 20.7%, 20.5% dan 13.2%, dibandingkan dengan kontrol normal sebesar 21.6%. Pada kelompok infeksi terjadi penurunan sel T naif pada kontrol infeksi sebesar 5.7%, kemudian pemberian dosis 25mg/kgBB mengakibatkan peningkatan sel T naif sebesar 7.1%. Pada kelompok infeksi, dosis 100 mg/kgBB menurunkan jumlah sel T memori sebesar 2.8%.



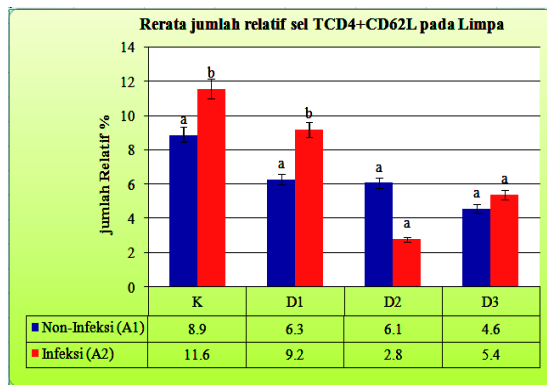
Gambar 2. Persentase rerata jumlah relatif $CD4^+CD62L^+$ dan $CD4^+CD62L^-$ pada setiap perlakuan, dianalisis menggunakan *flow cytometry* dengan program *CellQuest* pada organ limpa (Analisis pada organ limpa menggunakan double staining memakai antibodi *anti-CD4⁺* yang dilabel dengan *FITC* dan antibodi *anti-CD62L⁺* yang dilabel dengan *PE*. I = sel

limfosit T yang mengekspresikan $CD4^+CD62L^+$ (sel T naif), II = sel limfosit yang mengekspresikan $CD4^+CD62L^-$ (sel T memori), A = Non Infeksi, B = Infeksi, K= Kontrol, D1= Dosis 25mg/kgBB, D2= Dosis 100 mg/kgBB, D3= Dosis 300 mg/kgBB).

Berdasarkan hasil analisis statistik uji Anova dan BNJ, pada perlakuan non infeksi jumlah relatif sel T naif mengalami penurunan secara signifikan ($P<0.05$) sebesar 13.2% pada dosis 300 mg/kgBB. sedangkan jumlah relatif sel T naif pada dosis 25 mg/kgBB dan dosis 100 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan kontrol normal, pada kontrol infeksi jumlah relative sel T naif mengalami penurunan sebesar 5.7% dibandingkan dengan kontrol normal sebesar 21.6% ($P<0.05$) (Gambar 3). Hal ini menunjukkan bahwa molekul sel $TCD4^+CD62L^+$ teraktivasi, sehingga jumlahnya semakin menurun dalam kondisi terinfeksi. Jumlah relatif sel T memori kelompok non infeksi pada pemberian ketiga dosis tidak berbeda nyata, sedangkan jumlah relatif kontrol positif mengalami peningkatan sebesar 11.6% dibandingkan kontrol normal ($P<0.05$). pemberian dosis 100 mg/kgBB pada kelompok infeksi menurunkan sel T memori sebesar 2.8% ($P<0.05$) (Gambar 4.)



Gambar 3. Rerata jumlah relatif sel T naif ($TCD4^+CD62L^+$) pada setiap perlakuan hasil analisis statistik uji ANOVA RAL Faktorial dan uji BNJ pada organ limpa (K= Kontrol, D1= Dosis 25mg/kgBB, D2= Dosis 100 mg/kgBB, D3= Dosis 300 mg/kgBB).



Gambar 4. Rerata jumlah relatif sel T memori pada setiap perlakuan hasil analisis statistik uji ANOVA RAL faktorial dan uji BNJ pada organ limpa (K= Kontrol, D1= Dosis 25mg/kgBB, D2= Dosis 100 mg/kgBB, D3= Dosis 300 mg/kgBB).

Peningkatan dan penurunan sel T naif dan sel T memori, kemungkinan disebabkan karena ekstrak air buah mengkudu pada penelitian ini mengandung berbagai macam senyawa aktif. Hasil screening fitokimia ekstrak air buah *M. citrifolia* terdapat beberapa senyawa yaitu tannin, alkaloid, fenol, terpenoid, karbohidrat, flavonoid, saponin, glikosida, lipids (Nagalingam *et al.*, 2012). Buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) diduga memiliki kandungan skopoletin, antrakuinon, acubin, dan alizarin yang merupakan zat fitokimia dan antibakteria (Djauhariya, 2003). Ekstraksi dan fraksi dari buah mengkudu dapat meningkatkan proliferasi dari splenocyte, yang merupakan sumber dari sel T dan sel B (Kralovec *et al.*, 2007). Alkaloid dari mengkudu berperan sebagai imunostimulant (Chan *et al.*, 2006). Peningkatan sel T naif dan memori pada kelompok infeksi disebabkan adanya mitogen dari ekstrak air buah mengkudu. Mitogen dari tumbuhan dapat menginduksi sistem imun yaitu proliferasi dan diferensiasi sel T dan B (Folds *et al.*, 2003).

Sel T naif merupakan sel T CD4⁺ yang mengekspresikan molekul CD62L⁺. Ekspresi CD62L pada sel T naive dibutuhkan dalam proses sirkulasi didalam darah dan *lymph node* (Steeber *et al.*, 1996). CD62L disebut juga L-selektin yang tersebar pada bagian sel B, sel T monosit dan neutrofil (Tibault *et al.*, 2007). CD62L mendukung leukosit untuk melakukan rolling pada endothelium pembuluh darah melalui interaksi dari ligan yang terdapat pada endothelium, termasuk CD34, E-selectin (Rosen, 2004; sassetti, 1998). CD62L⁺ yaitu

molekul permukaan yang dibutuhkan dalam proses *rolling* leukosit dan proses aktivasi (Kishimoto *et al.*, 1989). Dalam proses *rolling* terjadi adhesi antara CD62L dengan ligan yang diekspresikan pada permukaan sel endotel, sehingga menurunkan kecepatan berjalan dari sel limfosit (Warnock *et al.*, 1996).

Berkurangnya ekspresi CD62L pada permukaan sel T naif (TCD4⁺CD62L⁺), menunjukkan bahwa CD62L diperlukan oleh sel T untuk melakukan pelekatan dan rolling pada sel endotel di sepanjang pembuluh darah. CD62L akan terekspresi sangat tinggi pada sel T naif dan akan menurun pada sel T yang teraktivasi. CD62L ini memediasi migrasi dari sel T naif menuju ke *lymph nodes*, pada daerah ini terdapat antigen dan terjadi inisiasi respon imun (Rifai'I, 2011). Ekspresi dari CD62L disebabkan oleh sel TCD4⁺ yang berproliferasi dan merespon adanya stimulasi dari antigen (Hengel *et al.*, 2003).

Pada kelompok infeksi sel T memori kontrol mengalami peningkatan dibandingkan kontrol normal, hal ini menunjukkan bahwa sel T memori aktif ketika terjadi infeksi *S. aureus*. Kemudian terjadi penurunan sel T memori pada pemberian ketiga dosis terutama dosis 100 mg/kgBB, hal ini dikarenakan bahan aktif antibakteria dalam buah mengkudu yaitu antrakuinon dan scopoletin yang bersifat lizozim terhadap sel bakteri (Irianto, 2006). Jumlah bakteri yang menurun mempengaruhi terhadap penurunan sel T memori. Berdasarkan penelitian sebelumnya, Sel T memori tidak memproduksi sitokin atau membunuh sel tetapi dengan cepat mengenali antigen. Sel T memori menunggu terjadinya infeksi kembali (Abbas dan Lichthman, 2005). Sel T memori berkaitan dengan dengan sel T helper 2 (Th2) di dalam sistem imun (Nakagome *et al.*, 2005).

Kesimpulan pada penelitian ini yaitu pada kelompok non infeksi pemberian dosis 25 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan kontrol normal, sedangkan dosis 300 mg/kgBB terjadi penurunan sel T naif (P<0.05). Sel T naif pada kontrol infeksi mengalami penurunan dibandingkan kontrol normal (P<0.05). Sel T memori pada kontrol infeksi mengalami peningkatan dibandingkan kontrol normal (P<0.05) Pada kelompok infeksi dosis 100 mg/kgBB mampu menurunkan jumlah sel T memori (P<0.05).

Kepustakaan

- Abbas K., and Lichtman A., 2005. *Cellular And Molecular Immunology. Fifth Edition*. Philadelphia: Saunders Elsivier. 122-123.
- Arifiandari dan Condro C., 2007. *Pengaruh Pemberian Fraksi Air Buah Mengkudu (Morinda citifolia L.) Terhadap Kadar Glutamat Piruvat Transaminase-Serum Pada Mencit BALB/C Yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B*. Tesis Pascasarjana. Jurusan Biologi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta, Indonesia.
- Baratawidjaja, K.G. & I. Rengganis. 2010. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI. 41-411.
- Beishir L., 1991. *Microbiology in Practice: A Self-Instructional Laboratory Course. 5th ed*. HarperCollins Publishers Inc. New York. USA. 446 - 450.
- Chan BY., Vaillant F., Perez A., Reynes M., Brillouet J., Brat P., 2006. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): a review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. *J Food Comp Anal*. 19: 645–654.
- Djauhariya E., 2003. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Tanaman Obat Potensial, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, *J. Perkembangan Teknologi TROL*. 15(1):21.
- Duncan SH., Flint HJ., and Stewart CS., 1998. Inhibitory activity of gut bacteria against *Escherichia coli* O157 mediated by dietary plant metabolites. *FEMS Microbiology Letters*. 164: 258-283.
- Folds JD., Schmitz JL., 2003. Clinical and laboratory assessment of immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 111:S702-11.
- Hengel RL., Thaker V., Pavlick MV., Metcalf AJ., Dennis G., Yang J., Richard A., Lempicki., Sereti I., and Lane H.C., 2003. Cutting Edge: L-Selectin (CD62L) Expression Distinguishes Small Resting Memory CD4⁺ T Cells That Preferentially Respond to Recall Antigen. *J Immunol*. 170:28-32.
- Hirazumi A., Furusawa E., 1999. An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) with antitumour activity. *Phytother Res*. 13(5):380-7.
- Irianto K., 2006. *Mikrobiologi*, Jilid 1. Bandung: YramaWidya. 36:77-78.
- Jawetz E., Melnick JL., Adelberg EA, Brooks GF., Butel JS., Orston LN., 1996. *Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 20*. Diterjemahkan oleh Nugroho E, Maulany RF. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. 211-215.
- Kaye MG., Fox MJ., Bartlett JG., Braman SS., and Glassroth J., 1990. The clinical spectrum of *Staphylococcus aureus* pulmonary infection. *Chest*. 97: 788–92.
- Kishimoto TK., Jutila MA., Berg EL., and Buther EC., 1989. Neutrophil Mac-1 and MEL-14 adhesion proteins inversely regulated by chemotactic factors. *Science*. 245: 1238–1241
- Kralovec J., Metera K., Kumar J., Watson L., Girouard G., Guan Y., Carr R., Barrow C., Ewart H., 2007. Immunostimulatory principles from *Chlorella pyrenoidosa*-Part 1: Isolation and biological assessment in vitro. *Phytomedicine*. 14:57–64.
- Lindberg E., Adlerberth I., Hesselmar B., Saalman R., Strannegard IL., Aberg N., Wold AE., 2004. High rate of transfer of *Staphylococcus aureus* from parental skin to infant gut flora. *J. Clin. Microbiol*. 42:530–534.
- Llewelyn M., Cohen J., 2002. Superantigens: microbial agents that corrupt immunity. *Lancet Infect Dis*. 2:156–62.
- Lowy FD., 1998. *Staphylococcus aureus* infections. *N. Engl. J. Med*. 339:520–532.
- McCormick JK., Yarwood JM., Schlievert PM., 2005. Toxic shock syndrome and bacterial superantigens: an update. *Annu Rev Microbiol*. 55:77–104.
- Murray MT., 2000. Noni juice - the passing of another panacea?. *Natural Medicine Online*. 3(2): 3.
- Nagalingam S., Sasikumar CS., Cherian KM., 2012. Extraction and preliminary

- phytochemical screening of active compounds in *Morinda citrifolia* fruit. *Asian J Pharm Clin Res.* 5(2):179-181.
- Nakagome K., Dohi M., Okunishi K., To Y., Sato A., Komaqata Y., Nagatani K., Tanaka R., Yamamoto K., 2005. Antigen sensitized CD4⁺CD62L^{low} memory/effector T helper 2 cells can induce airway hyperresponsiveness in an antigen free setting. *Respir Res.* 6:46.
- Purnomo A., Hartatik., Khusnan., SIO., Salasia., dan Soegiyono., 2006. Isolasi dan Karakterisasi *Staphylococcus aureus* Asal Susu Kambing Peternakan Ettawa. *Media Kedokteran Hewan.* 22 (3): 142 - 147.
- Raj V.B.A., Murugamani V., Mounika P., Madhuri B., 2011. Preliminary Phytochemical Investigation of Givotia Moluccana Stem. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences.* 2 (3):1307-1313.
- Ramesh S., Radhakrishnan M., Anburaj R., Elangomatavan R., Patharajan S., 2012. Physicochemical, phytochemical and antimicrobial studies on *Morinda citrifolia* L. Fruits at different maturity stages. *Int J Pharm Pharm Sci.* 4(5): 473-476.
- Rifa'i, Muhaimin. 2011. *Autoimun dan Bioregulator.* Malang: UB Press. 28-29.
- Rosen SD., 2004. Ligands for L-selectin: homing, inflammation, and beyond. *Annu Rev Immunol.* 22:129-156.
- Sasseti C., Tangemann K., Singer MS., Kershaw DB., and Rosen SD., 1998. Identification of podocalyxin-like protein as a high endothelial venule ligand for L-selectin: parallels to CD34. *J Exp Med* 187, 1965-1975.
- Steeber DA., Green NE., Sato S., Tedder TF., 1996. Lymphocyte migration in L-selectin-deficient mice: altered subset migration and aging of the immune system. *J. Immunol.* 157:1096.
- Stevens DL., 1996. The toxic shock syndromes. *Infect Dis Clin North Am.* 10:727-46.
- Tibault S., Tardif MR., Gilbert C., and Tremblay MJ., 2007. Virus-associated host CD62L increases attachment of human immunodeficiency virus type 1 to endothelial cells and enhances trans infection of CD4⁺ T lymphocytes. *Journal of General Virology.* 88:2568-2573.
- Wang MY., West B., Jensen CJ., Nowicki D., Su C., Palu, AK., Anderson G., 2002. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in Noni research. *Acta Pharmacologica Sinica.* 23:1127-1141.
- Warnock RA., Askari EC., Butcher., and Andrian V., 1998. Molecular mechanisms of lymphocyte homing to peripheral lymph nodes. *J. Exp.Med.* 187:205