

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAGING BUAH MAHKOTA DEWA (*PHALERIA MACROCARPA*) TERHADAP VIABILITAS SEL LIMFOSIT PADA KULTUR PBMC YANG DIPAPAR H₂O₂ 3%

Ni Wayan Devi Yulianti¹, I Gusti Kamasan Nyoman Arijana²

¹Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter Kedokteran Universitas Udayana

²Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

Email: devi31_yulianti@yahoo.co.id

ABSTRAK

Sistem kekebalan tubuh mempunyai peranan yang sangat vital bagi kesehatan. Sistem imun diperlukan untuk melindungi tubuh terhadap bahaya yang ditimbulkan oleh berbagai bahan dalam lingkungan, salah satunya radikal bebas. Antioksidan dapat meredam reaktivitas dari radikal bebas. Mahkota dewa khususnya daging buahnya mengandung antioksidan, yakni flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa terhadap viabilitas sel limfosit pada kultur PBMC yang dipapar H₂O₂ 3%. Rancangan penelitian ini adalah eksperimental murni dengan pola *Post Test Only Control Group Design*. Sampel yang digunakan adalah sel limfosit pada kultur PBMC sebanyak 816 x10² sel/ml. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa, variabel terikat adalah viabilitas sel limfosit. Data dianalisis dengan *One Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*. Pada konsentrasi 0,00000196 gr/ml (P4) setelah pengamatan selama 30 menit, didapatkan nilai viabilitas tertinggi sebesar 92,58 %. Uji *One Way ANOVA* memperoleh hasil nilai p 0,001 (p <0,05) yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan pada viabilitas sel limfosit antara kelompok yang diteliti. Pada analisis *Post Hoc* diperoleh hasil terdapat perbedaan yang paling signifikan secara statistik pada kelompok P1 dan P4 (p=0,001). Ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa efektif dalam meningkatkan viabilitas sel limfosit dibandingkan dengan kontrol positif. Konsentrasi 0,00000196 gr/ml merupakan konsentrasi yang paling efektif. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang sama banyak pada setiap perlakuan serta konsentrasi yang lebih bervariasi

Kata kunci: *daging buah mahkota dewa, sel limfosit, H₂O₂*

ABSTRACT

The immune system has a vital role for health. The immune system is necessary to maintain the integrity against danger posed by a variety of materials in the environment, one of them is free radicals. Antioxidant can reduce the reactivity of free radicals. *Mahkota Dewa*, especially the fruit pulp contains antioxidants, specifically flavonoids. This study aimed to determine the effect of ethanol extract of *Mahkota Dewa* Fruit Pulp (*Phaleria Macrocarpa*) against viability of lymphocytes cells in PBMC cultures exposed to 3% H₂O₂. The design of this study was purely experimental with patterns of *Post Test Only Control Group Design*. The samples used were lymphocytes in PBMC cultures as much as 816 X 10² cells/ml. The independent variable in this study was the concentration of the ethanol extract of *Mahkota Dewa* Fruit Pulp, the dependent variable is the viability of lymphocytes cells. Data were analyzed by *One Way ANOVA* followed by *Post Hoc* test. At a concentration of 0.00000196 g/ml (P4) after observation for 30 minutes, obtained the highest value of viability 92.58%. In *One Way ANOVA* obtain results p value = 0.001 (p <0.05), which means that there is a difference viability of lymphocyte cell between groups were examined. In the *Post Hoc* analysis results obtained are the most difference is statistically significant at P1 and P4 group (p = 0.001). Ethanol extract of *Mahkota Dewa* Fruit Pulp effective in increasing viability of lymphocyte cells compared to the positive control, especially in concentration 0.00000196 g/ml, where it was the most effective concentration. Further research is needed with the homogen number of samples in each group and a lot more varied concentrations.

Keywords: *Mahkota dewa* fruit pulp, lymphocytes, H₂O₂

PENDAHULUAN

Sistem kekebalan tubuh mempunyai peranan yang sangat vital bagi kesehatan. Sistem imun dapat dibagi menjadi sistem imun nonspesifik dan sistem imun spesifik, di mana salah satu jenis respon imun spesifik yakni limfosit.¹ Limfosit merupakan bagian dari sel darah putih yang bersifat agranulosit, berukuran kecil, berbentuk bulat dengan diameter 7-12 μm dan banyak terdapat pada organ limfoid seperti limpa, kelenjar limfa, dan timus.² Sistem imun diperlukan oleh karena dapat mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang ditimbulkan oleh berbagai bahan dalam lingkungan, salah satunya radikal bebas.

Salah satu jenis radikal bebas yakni hidrogen peroksida (H_2O_2). Semakin tinggi konsentrasi H_2O_2 , semakin tinggi sifat korosif dan ketidakstabilannya (reaktif). Senyawa H_2O_2 secara elektrik memiliki sifat netral sehingga mudah berdifusi serta tidak adanya hambatan pada saat melewati membran sel. Pada pembuluh darah kecil, H_2O_2 berperan pada proses luka di mana dapat meningkatkan permeabilitas endotel, yang dapat bersifat toksik bagi endotel. Selain itu, H_2O_2 juga dapat meningkatkan aktivitas pompa Na/K membran sel, menghambat transport anion, dan juga merangsang kerusakan DNA. H_2O_2 merupakan oksidan yang umum pada makhluk hidup dan merupakan agen sitotoksik, di mana konsentrasinya harus diperkecil dengan aksi pertahanan dari antioksidan.³

Antioksidan dapat melindungi tubuh dari sejumlah penyakit dengan menghindarkan dari efek destruktif yang ditimbulkan radikal bebas.³ Penggunaan antioksidan alami saat ini dipilih karena dianggap lebih aman dibandingkan antioksidan sintesis, karena antioksidan alami berasal dari ekstrak tanaman. Buah Mahkota Dewa merupakan salah satu sumber antioksidan yang mudah dibudidayakan di Indonesia, di mana pada daging buahnya memiliki kandungan senyawa flavonoid sebagai zat antioksidan yang paling tinggi. Selain flavonoid, pada daging buah Mahkota dewa juga mengandung fenol, minyak asiri, lignin, sterol, alkanoid, dan tannin.⁴ Flavonoid memiliki kemampuan untuk mengganggu sistem produksi radikal bebas atau bisa juga dengan meningkatkan fungsi antioksidan endogen (pemusnah endogen). Flavonoid bisa mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dengan beberapa cara, salah satunya adalah memakan radikal bebas secara langsung.⁵ Kandungan flavonoid dalam ekstrak buah mahkota dewa didapatkan 1,7647 mg/L atau 2,2334 mg/kg pada buah yang masak.⁶

Berdasarkan paparan di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) terhadap viabilitas sel limfosit pada kultur PBMC yang dipapar H_2O_2 3%. Manfaat

yang diharapkan yakni memberikan informasi mengenai manfaat ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) dalam upaya menurunkan apoptosis jumlah sel limfosit dari paparan radikal bebas hidrogen peroksida (H_2O_2). Dengan manfaat ini diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan mengenai fungsi ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini adalah eksperimen murni dengan pola *Post Test Only Control Group Design* pada sampel darah vena secara *in vitro*. Penelitian dilaksanakan di laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dan berlangsung pada bulan Juni 2014 hingga November 2014.

Sampel yang digunakan adalah sel limfosit pada kultur PBMC sebanyak 816×10^2 sel/ml. Pada penelitian ini terdapat lima perlakuan, di mana masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan lima kali sesuai penghitungan menggunakan rumus Federer dan tiap sumur berisi 10 μl sel limfosit. Kelompok P0 adalah kelompok kontrol negatif yang diberikan paparan PBS1X, P1 adalah kelompok positif yang diberikan paparan 3% H_2O_2 , P2 adalah kelompok yang diberikan paparan 3% H_2O_2 dan ekstrak etanol daging buah Mahkota dewa dosis 0,00000049 gr/ml, P3 adalah kelompok yang diberikan paparan 3% H_2O_2 dan ekstrak etanol daging buah Mahkota dewa 0,00000098 gr/ml, dan P4 adalah kelompok yang diberikan paparan 3% H_2O_2 dan ekstrak etanol daging buah Mahkota dewa dosis 0,00000196 gr/ml.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) dalam tiga konsentrasi, yakni: 0,00000049 g/ml (P2), 0,00000098 g/ml (P3), dan 0,00000196 g/ml (P4). Variabel tergantung adalah jumlah sel limfosit darah vena yang dilakukan pengujian selama 30 menit. Sedangkan variabel kendali adalah paparan H_2O_2 .

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daging buah Mahkota Dewa. Bahan utama diperoleh dari Darmasaba, Kabupaten Badung, Bali. Bahan kimia yang dipakai untuk ekstraksi adalah etanol 95% dan kertas saring Whatman No.42. Bahan-bahan yang digunakan untuk isolasi limfosit dan kultur sel adalah darah dari pembuluh vena donor yang sehat, RPMI-1640 (Sigma, USA), akuades, antibiotik Penicillin-Streptomycin (Roche Indianapolis, USA), *trypan blue*, larutan mitogen (PHA) pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/ml}$, *Fetal Bofine Serum* (FBS), *Phospat Buffer Saline* (PBS), NaHCO_3 anhidrous, heparin, dan akuabides.

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini meliputi instrumen untuk ekstraksi dan persiapan sampel, yaitu blender kering, peralatan gelas, kompor, panci, kain saring, kulkas, *rotary*

vacuum evaporator, *syringe*, membran steril 0.22 μm (Sartorius), dan tabung *ependorf*. Instrumen yang digunakan untuk isolasi limfosit dan kultur sel adalah tabung *vacutainer* steril, tabung *conical*, sentrifuse CR412, tabung sentrifuse steril 15 ml disposable (Nunc), 19 mikropipet, mikrotip, vorteks, hemasitometer (Bright-line), mikroskop (Olympus CX 41), sumur atau lempeng mikrokultur (24 well), *laminar flow hood*, dan inkubator ESCO cell culture CO_2 .

Penelitian ini terdiri atas empat tahapan, yaitu tahap persiapan, tahap isolasi limfosit, tahap uji toksisitas akut, dan tahap perlakuan. Pada tahapan persiapan, dilakukan persiapan bahan dan instrumen yang diperlukan, serta pembuatan ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa. Pada tahapan isolasi sel limfosit, dilakukan pengambilan darah vena 5 ml dari pembuluh darah perifer. Kemudian dilakukan isolasi sel limfosit dari sel-sel darah lainnya dengan menambahkan PBS1X dengan perbandingan 1:1 dan homogenkan secara perlahan. Akan didapatkan bagian PBMC, kemudian tambahkan PHA sebagai stimulator dan FBS sebagai *growth factor*. Didiamkan selama tiga hari di dalam inkubator dan di cat menggunakan *trypan blue* serta dihitung jumlah proliferasi sel limfosit.

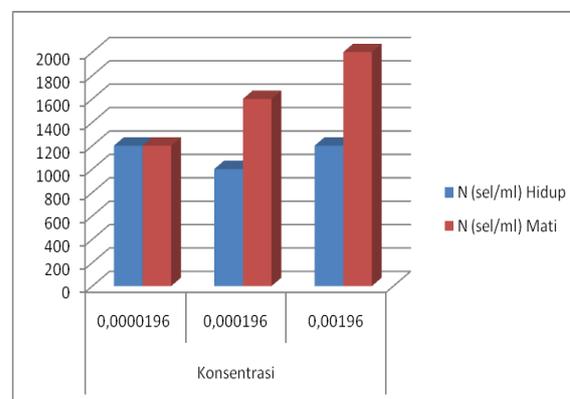
Pada tahapan uji toksisitas akut, ekstrak diambil sebesar 0,0196 gram dan dilakukan pengenceran menggunakan akuades dengan tiga konsentrasi berbeda. Kemudian, disiapkan sumur atau plat uji sebanyak empat sumur. Masukkan medium berupa PBS1X sebanyak 979 μl ke dalam tiga plat uji dan 980 μl ke dalam plat uji ke empat sebagai kontrol. Tambahkan sel limfosit pada masing-masing plat uji sebanyak 20 μl . Tambahkan pula hasil pengenceran ekstrak daging buah mahkota dewa ke dalam tiga plat uji sebesar 1 μl , sedangkan pada kontrol tidak diberikan. Masukkan plat uji ke dalam inkubator dan tunggu selama satu kali dua puluh empat jam. Setelah itu, dilakukan pengecatan sel limfosit dengan pewarnaan *trypan blue* dan dihitung jumlah sel limfosit yang hidup dan mati.

Pada tahapan perlakuan, dilakukan pembagian sel limfosit sebesar 10 μl pada tiap 5 kelompok (P0, P1, P2, P3, dan P4). Kelompok P0 diberikan paparan PBS1X sebesar 5 μl dan ditambahkan medium RPMI sebanyak 485 μl , kelompok P1 mendapat paparan H_2O_2 3% sebesar 0,284 μl dan medium RPMI sebanyak 489,716 μl . Kelompok P2, P3, dan P4 mendapat paparan H_2O_2 3% sebesar 0,284 μl dan ekstrak etanol daging buah mahkota dewa sebanyak 5 μl dengan 3 variasi dosis berbeda dan medium RPMI sebanyak 484,716 μl . Setelah didiamkan selama tiga puluh menit di dalam inkubator, selanjutnya dihitung jumlah sel limfosit yang hidup dan mati dengan pengecatan *trypan blue* pada kamar hitung.

Data yang diperoleh dianalisis dengan melakukan analisis analitik. Kemudian, dilanjutkan dengan uji normalitas, homogenitas, *One Way Anova*, serta *Post Hoc* untuk mengetahui efek perlakuan. Penelitian ini telah mendapatkan kelayakan etik dari Komite Etik Litbang FK UNUD / RSUP Sanglah Nomor : 459/UN. 14.2/Litbang/2014.

HASIL

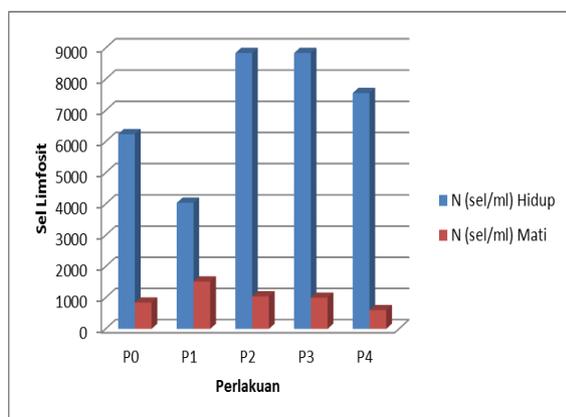
Hasil pertama dari penelitian ini adalah hasil dari pengujian toksisitas akut terhadap proliferasi sel limfosit dapat dilihat pada **Gambar 1**. Pada **Gambar 1** dapat dilihat hasil uji toksisitas pada konsentrasi ekstrak daging buah Mahkota Dewa 0,0000196 g/ml diperoleh jumlah sel limfosit hidup 1200 sel/ml dan jumlah sel mati 1200 sel/ml. Dari konsentrasi ekstrak 0,000196 g/ml diperoleh jumlah sel limfosit hidup 1000 sel/ml dan sel limfosit mati 1600 sel/ml. Konsentrasi ekstrak 0,00196 g/ml diperoleh sel limfosit hidup 1200 sel/ml dan sel limfosit mati 2000 sel/ml. Sehingga dari hasil pengujian toksisitas akut diperoleh LD_{50} sebesar 0,0000196 gr/ml.



Gambar 1.
Grafik Uji Toksisitas Akut

Hasil dari pengujian pemberian ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa pada sel limfosit yang dipapar oleh H_2O_2 3% dapat dilihat pada **Gambar 2**. Di dalam kelompok kontrol negatif (P0), jumlah sel limfosit yang hidup sebanyak 9100 sel/ml dan yang mati sebanyak 550 sel/ml. Kelompok positif (P1) yang terpapar H_2O_2 3% didapatkan jumlah sel limfosit yang hidup sebanyak 4600 sel/ml dibandingkan yang mati 900 sel/ml. Kelompok yang diberikan ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa dosis 0,00000049 gr/ml (P2), jumlah sel limfosit yang hidup adalah 8840 sel/ml dan yang mati sebanyak 1040 sel/ml. Kelompok yang diberikan ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa dosis 0,00000098 gr/ml (P3), jumlah sel limfosit yang hidup adalah 8840 sel/ml dan yang mati sebanyak 1000 sel/ml. Pada kelompok yang diberikan ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa dosis 0,00000196 gr/ml (P4),

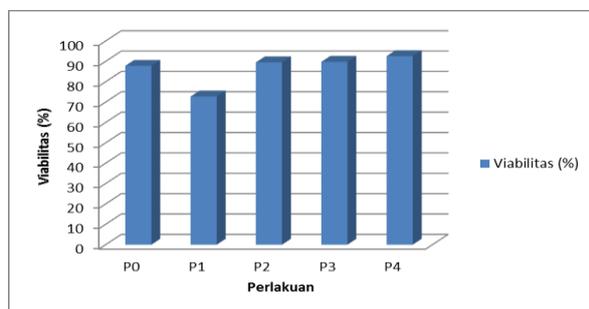
jumlah sel limfosit yang hidup adalah 7560 sel/ml dan yang mati sebanyak 600 sel/ml. Jadi dapat dikatakan pada kelompok P4 dengan konsentrasi 0,00000196 gr/ml memiliki angka kematian sel limfosit terendah dan pada kelompok P2 memiliki konsentrasi kematian sel limfosit tertinggi. Hasil rerata menunjukkan bahwa peningkatan viabilitas sel limfosit berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) yang digunakan.



Gambar 2.

Grafik Jumlah Sel Limfosit terhadap Perlakuan

Hubungan viabilitas sel limfosit dengan masing-masing perlakuan dapat dilihat dari **Gambar 3**. Pada **Gambar 3** terlihat bahwa viabilitas sel limfosit pada P0 memiliki nilai sebesar 87,82%, P1 sebesar 72,74%, P2 sebesar 89,52%, P3 sebesar 89,77%, dan P4 sebesar 92,58%. Sehingga dapat dikatakan viabilitas tertinggi terdapat pada kelompok P4 dan viabilitas terendah pada kelompok P2.



Gambar 3.

Grafik Hubungan Viabilitas Sel Limfosit dengan Perlakuan

Setelah melakukan perhitungan secara deskriptif, dilanjutkan dengan uji data secara statistik. Pada penelitian ini dilakukan 4 uji statistik, yaitu uji normalitas, uji homogenitas, uji *One-Way ANOVA*, dan uji *Post Hoc*. Berdasarkan hasil uji normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* diperoleh hasil nilai $p = 0,189$ ($p > 0,05$), yang menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Pada uji homogenitas dengan

Levene Test diperoleh nilai $p = 0,232$ ($p > 0,05$) maka dapat dikatakan bahwa varian data sama. Berdasarkan analisis varian menggunakan uji *One Way ANOVA* diperoleh hasil nilai $p = 0,001$ ($p < 0,05$) yang artinya bahwa terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik terhadap viabilitas sel limfosit pada masing-masing perlakuan.

Berdasarkan hasil analisis *Post Hoc* dapat disimpulkan bahwa P0 dan P1 ($p=0,001$); P0 dan P4 ($p=0,001$); P1 dan P2 ($p=0,001$); P1 dan P3 ($p=0,001$); P1 dan P4 ($p=0,001$); P2 dan P4 ($p=0,017$); P3 dan P4 ($p=0,026$) mempunyai nilai $p < 0,05$ yang artinya pasangan perlakuan tersebut memiliki perbedaan viabilitas sel limfosit yang signifikan secara statistik. Berdasarkan uji *Post Hoc* yang dilakukan dengan menggunakan uji *Bonferroni* menunjukkan pada kelompok yang hanya diberikan H_2O_2 (P1) dan pada kelompok yang diberikan konsentrasi ekstrak 0,00000196 sel/ml (P4) memiliki perbedaan rerata yang paling tinggi dengan signifikansi $p=0,001$. Sehingga dapat dikatakan bahwa konsentrasi ekstrak pada P4 lebih efektif dalam meningkatkan viabilitas sel limfosit terhadap paparan H_2O_2 dibandingkan konsentrasi ekstrak pada paparan lainnya.

DISKUSI

Peningkatan viabilitas sel limfosit pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) disebabkan karena kandungan zat aktif dalam ekstrak tersebut. Daging buah mahkota dewa memiliki banyak kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) yang diduga memiliki potensi dalam meningkatkan viabilitas sel limfosit.⁴ Flavonoid sebagai salah satu antioksidan memiliki mekanisme kerja secara langsung maupun tidak langsung. Mekanisme kerja flavonoid secara langsung yakni dengan mendonorkan ion hidrogen (H^+) sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas. Sementara, mekanisme kerja flavonoid secara tidak langsung yakni dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme. Salah satu mekanisme peningkatan ekspresi gen antioksidan yakni melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2) sehingga terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen seperti misalnya gen SOD (*superoxide dismutase*).⁷ Jadi secara umum, flavonoid menstabilkan senyawa oksigen reaktif dengan bereaksi dengan susunan reaktif dari radikal tersebut sehingga dapat melindungi sel limfosit dari paparan H_2O_2 . Hal ini sesuai dengan hasil penelitian, di mana pada perlakuan P4 lebih efektif dalam meningkatkan viabilitas sel limfosit terhadap paparan H_2O_2 dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak pada perlakuan lainnya.

Secara keseluruhan, kelompok yang mendapatkan ekstrak etanol daging buah Mahkota

Dewa dan paparan H₂O₂ 3% memiliki jumlah kematian sel limfosit yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberikan paparan H₂O₂ 3%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) mampu melindungi sel dari kematian akibat paparan H₂O₂. Hasil ini diakibatkan oleh kandungan flavonoid dalam daging buah Mahkota Dewa yang bermanfaat sebagai antioksidan, dalam hal ini melindungi sel limfosit dari paparan H₂O₂.

Pada penelitian lainnya, mengenai kajian hasil penelitian mahkota dewa pada hewan coba, mengatakan bahwa buah mahkota dewa terbukti mempunyai khasiat hepatoprotektor, bersifat antioksidan, menurunkan kadar gula darah dan antihistamin.⁸ Penelitian lain yang lebih spesifik dilakukan oleh Lisdawati, dkk yang membahas mengenai aktivitas antioksidan dari berbagai fraksi ekstrak etanol daging buah buah dan kulit biji mahkota dewa mengatakan bahwa ekstrak uji metanol dari daging buah memiliki nilai IC₅₀ sebesar 103,75 µg/ml dengan aktivitas antioksidan sangat aktif.^{9,10}

Berdasarkan hasil-hasil penelitian terdahulu dan hasil penelitian yang diperoleh dalam penelitian ini, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol daging buah mahkota dewa efektif dalam meningkatkan viabilitas sel limfosit dari paparan H₂O₂. Hal ini sesuai dengan hasil pada penelitian di mana kelompok yang diberikan paparan ekstrak etanol daging buah mahkota dewa dan H₂O₂ memiliki viabilitas sel limfosit yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberikan H₂O₂.

SIMPULAN

Ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) mampu meningkatkan viabilitas sel limfosit terhadap paparan H₂O₂ 3%.

Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan konsentrasi ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa yang lebih bervariasi dan diperlukan pula jumlah sampel sel limfosit yang sama per kelompok perlakuan. Selain itu, disarankan menggunakan MTT dalam melakukan perhitungan sel limfosit agar lebih akurat dalam perhitungan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menyampaikan terima kasih kepada Litbang FK UNUD atas bantuannya memberikan dana penelitian sehingga penelitian ini dapat dikerjakan sebagaimana mestinya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Baratawidjaja, Karnen G., Rengganis, Iris. *Imunologi Dasar Edisi ke Sembilan*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI. 2010. h 29-40
2. Bakta, Made. *Hematologi Klinik Dasar*. Penerbit Buku Kedokteran. 2006. h 1-2

3. Lee KS, Kim SR, Park SJ, Park HS, MinKH, Lee MH, et al. Hydrogen peroxide induced vascular permeability via regulation of vascular endothelial growth factor. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2006. H 190-7
4. Harmanto N. *Mahkota Dewa Obat Pusaka Para Dewa*. AgroMedika Pustaka, Jakarta. 2005. h 12-13
5. Nijvelt, RJ. *Flavonoid: A Review of Probable Mechanism of Action and Potential Applications*. *Am J Clin Nutr*. 74. 2001. h 418-25
6. Rohyami Y. Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa* Scheff Boerl). *Jurnal Logika*. 5 (1). 2008. h 1-8
7. Sumardika, W; Jawi, M. Ekstrak Air Daun Ubijalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang diberi Makanan Tinggi Kolesterol. *Medicina*. 43. 2012. h 67-71
8. Widowati, L; Pudjiwati; Nuratmi, B. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Mahkota Dewa Pada Hewan Coba. *Media Litbang Kesehatan*. Volume XV Nomor I. 2005
9. Lisdawati, V; Kardono, LB. Aktivitas Antioksidan dari berbagai Faksi Ekstrak Daging Buah Mahkota Dewa dan Kulit Biji Mahkota Dewa. *Media Litbang Kesehatan* XVI.4. 2006. h 1-7
10. Jawi, I., Yasa, I., Mahendra, A. 2016. Antihypertensive and Antioxidant Potential of Purple Sweet Potato Tuber Dry Extract in Hypertensive Rats. *Bali Medical Journal* 5(2). DOI:10.15562/bmj.v5i2.217