

**Aktivitas Fagositosis Monosit yang Diinkubasi Ekstrak Daun  
Kopi Robusta (*Coffea robusta*) dan Dipapar *Candida albicans***

*(Phagocytic Activity of Monocyte Incubated in Robusta Coffee Leaves  
Extract and Exposed by Candida albicans)*

Mas Roro Dyah Ayu Erlindawarni<sup>1</sup>, Roedy Budirahardjo<sup>2</sup>, Tantin Ermawati<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

<sup>2</sup>Bagian Pedodontia, Fakultas Kedokteran Gigi-RSGM Universitas Jember

<sup>3</sup>Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

Jl. Kalimantan 37, Jember 68121

e-mail: dyahmasayu@yahoo.com

## **Abstract**

**Background:** 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. Coffee has been proved to increase monocyte's phagocytic activity, but the effect of robusta coffee leaves extract (EDKR) to increase monocyte's phagocytic activity on *C. albicans* is unknown. **Objectives:** To determine the effect of coffee robusta leaves on monocyte's phagocytic activity on *C. albicans*. **Methods:** This research was acted invitro on human monocyte cell culture. There was 5 groups: negative control group, positive control group (incubated in Isoprinosine) and treatment groups was incubated in EDKR 2,5%, 5%, 10%. The percentage of activated monocytes was counted. **Result:** The result showed that incubation of EDKR 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 EDKR 2,5%, 5% and 10% is 65%, 60,5%, and 58,75%. The optimal concentration of EDKR to increase monocyte's phagocytic activity was 2,5%. **Conclusion:** The study showed that EDKR can increase monocyte's phagocytic activity on *C. albicans*.

**Keywords:** *C. albicans*, Coffee leaves, Monocyte's Phagocytic Activity

## Pendahuluan

*Candidiasis* adalah infeksi jamur yang paling umum terjadi di rongga mulut.<sup>1</sup> *Candidiasis* umumnya disebabkan oleh jamur *C. albicans*. *C. albicans* adalah mikroorganisme komensal di rongga mulut individu sehat yang berubah menjadi patogen pada kondisi yang dipengaruhi oleh faktor lokal maupun sistemik.<sup>2</sup> Faktor predisposisi utama yang menyebabkan perubahan *C. albicans* yang bersifat komensal menjadi patogen adalah rendahnya daya tahan tubuh sehingga menyebabkan *Candidiasis*.<sup>3</sup>

Imunitas nonspesifik merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*) yang berfungsi memberikan respon dini terhadap patogen dan juga memegang peranan penting dalam menginduksi respon imun spesifik. Salah satu upaya yang dilakukan sistem imun nonspesifik dalam mempertahankan diri terhadap masuknya antigen yaitu dengan cara menghancurkan antigen melalui proses fagositosis.<sup>4</sup> Fagositosis merupakan proses fisiologis yang penting dimana monosit atau makrofag, neutrofil, dan sel lain aktif menelan dan menghancurkan mikroorganisme asing maupun sel apoptosis dan partikel abnormal dalam tubuh.<sup>5</sup>

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.<sup>6</sup> 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*.<sup>7</sup>

Aktivitas fagositosis dapat dipengaruhi oleh obat-obatan, salah satunya adalah inosiplex. Inosiplex yang lebih dikenal dengan nama isoprinosin (ISO) merupakan bahan sintetis yang mempunyai efek antivirus dan imunomodulator. Namun pemakaian isoprinosin dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping yaitu peningkatan kadar asam urat plasma.<sup>8</sup> Peningkatan kadar asam urat dalam darah (hiperurisemia) yang lanjut dapat berkembang menjadi *gout*. Hiperurisemia beresiko tinggi terhadap beberapa gangguan seperti artritis *gout*, batu ginjal, kerusakan ginjal, serta tekanan darah tinggi.<sup>9</sup> Bahan alami dengan efek samping minimal yang diketahui memiliki efek imunomodulator dan dapat digunakan sebagai alternatif yaitu kopi.

Daun kopi robusta mengandung alkaloida, saponin, flavonoida, kafein dan polifenol. Salah satu senyawa polifenol di dalam daun kopi, yaitu asam klorogenat, diketahui mampu berperan sebagai antioksidan.<sup>10</sup> Kandungan polifenol dapat meningkatkan produksi IL-12 dan IFN- $\gamma$  yang berkaitan dengan peningkatan aktivitas fagositosis.<sup>11</sup> Polifenol juga berperan sebagai antioksidan, yaitu dengan menangkap radikal bebas hidroksil (HO), sehingga tidak mengoksidasi lemak, protein dan DNA dalam sel.<sup>12</sup> Flavonoid memiliki kemampuan memperbaiki respon *host* yang mengaktivasi neutrofil dan monosit/makrofag yang berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing.<sup>5</sup> Senyawa flavonoid juga berpengaruh terhadap jalur transduksi sinyal yang berperan pada proses proliferasi sel, aktivitas antioksidan, memodulasi aktivitas enzim, serta memodulasi produksi sitokin.<sup>13, 14</sup> Sedangkan kafein memiliki peran dalam pengembangan pertahanan tubuh melawan agen infeksius dengan meningkatkan aktivitas sel imun dan memperkuat aktivitas lisozim. Penelitian yang telah dilakukan, menunjukkan biji kopi robusta terbukti meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit terhadap antigen lateks.<sup>15</sup> Berdasarkan uraian diatas, maka tujuan penelitian

ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun kopi robusta terhadap aktivitas fagositosis monosit yang dipapar *C. Albicans*.

### **Metode Penelitian**

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris secara *in vitro*, dengan perlakuan berupa inkubasi EDKR pada kultur sel monosit dan pemaparan *C. albicans*. 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 Isoprinosin dan kelompok perlakuan (P1, P2, P3) yang diinkubasi dengan EDKR 2,5%, 5% dan 10%.

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 kopi robusta 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  $\mu$ l, sesuai dengan jumlah sampel. Selanjutnya inkubasi dengan EDKR 2,5%, 5% dan 10% pada kelompok perlakuan (P1, P2, P3) dan pemberian Isoprinosin 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 400x.

Data yang diperoleh berupa presentase jumlah monosit aktif dari 100 sel yang dihitung pada masing-masing *well*. Kemudian data dianalisis dengan uji *one way anova* ( $p < 0,05$ ) dilanjutkan dengan uji LSD.

### **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 EDKR 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.

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 (EDKR 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 daun kopi robusta (*Coffea robusta*) terhadap aktivitas fagositosis monosit yang dipapar *C. albicans*. Hasil penghitungan menunjukkan jumlah rata-rata fagositosis monosit terhadap *C. albicans* pada kelompok perlakuan (pemberian ekstrak daun kopi 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 daun kopi 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  $\beta$ -*glucan* dalam dinding sel *C. albicans*. Sedangkan TLR9 akan mengenali asam nukleat sitoplasma dan *chitin* pada dinding sel *C. albicans*.<sup>16, 17</sup> Setelah terjadi pengenalan, monosit akan menelan patogendengan membentuk pseudopodia (kaki semu) yang akan mengelilingipatogen tersebut. Sehingga patogen akan terkurung dalam fagosom (vakuola fagositik).<sup>15</sup>

Peningkatan aktivitas fagositosis monosit melalui pemberian ekstrak daun kopi robusta diduga karena adanya kandungan polifenol, flavonoid dan kafein di dalam daun kopi yang berfungsi sebagai immunomodulator. Daun kopi robusta mengandung total fenol sebesar 27,04  $\mu\text{g/g}$  dan flavonoid sebesar 10,9  $\mu\text{g/g}$ .<sup>18</sup> Polifenol dapat meningkatkan produksi IL-12 dan IFN- $\gamma$  yang berkaitan dengan peningkatan aktivitas fagositosis.<sup>11</sup> Flavonoid mempunyai kapasitas untuk memodulasi respon imun, meningkatkan fungsi limfosit, serta menginisiasi respon imun spesifik. Flavonoid juga menginduksi pembentukan sitokin pro-inflamasi, seperti IL-2 yang dapat meningkatkan sintesis immunoglobulin.<sup>19</sup> Pada penelitian lain, menyebutkan bahwa kafein dan katekin

dapat memodulasi produksi sitokin proinflamasi (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$ ) oleh sel *mononuclear* secara *in vitro* dan *in vivo*. Namun jumlah kafein yang terkandung dalam daun kopi robusta belum diketahui secara pasti.<sup>20</sup>

Kandungan polifenol, flavonoid dan kafein yang terkandung dalam daun kopi robusta 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.<sup>21</sup> Sitokin juga dapat meningkatkan potensi membunuh oleh makrofag/monosit dengan menstimuli enzim lisosom melalui percepatan respirasi serta meningkatkan reseptor fagosit.<sup>22</sup>

Kandungan polifenol, flavonoid, kafein dan tannin dalam daun kopi juga bersifat sebagai antioksidan. Antioksidan berperan dalam melindungi sel dari mekanisme oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas seperti peroksida, hidroperoksida atau peroksida lipid.<sup>23</sup> Dimana dalam mekanisme fagositosis, melalui jalur oksidatif, sel fagosit distimulasi untuk mengeluarkan oksidan seperti superoksida (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) dan hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dari oksigen, myeloperoksidase dan NADPH atau NADH yang dapat berinteraksi kemudian menghasilkan metabolit oksigen yang toksik, sehingga dapat digunakan untuk membunuh patogen.<sup>24</sup> 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.<sup>25</sup>

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. Kafein pada konsentrasi rendah (<10 mM) mampu mencegah apoptosis dan meningkatkan kelangsungan hidup sel. Kafein pada konsentrasi moderate (10-20 mM) mampu menginduksi apoptosis, sedangkan pada konsentrasi tinggi (>20 mM) dapat mencegah kelangsungan hidup sel.<sup>26</sup> Hal ini didukung oleh penelitian Asti (2015) yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak pada dosis yang tinggi dapat meningkatkan jumlah sel monosit yang lisis sehingga menurunkan aktivitas fagositosis monosit.<sup>15</sup>

Jika dibandingkan dengan isoprinosin, ekstrak daun kopi robusta 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.<sup>27</sup> Kelebihan lain dari ekstrak daun kopi robusta dibandingkan dengan isoprinosin yaitu potensinya sebagai antijamur. Ekstrak daun kopi robusta dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans*, diduga melalui mekanisme denaturasi protein sel jamur dan perusakan membran sel jamur.<sup>28</sup>

## **Simpulan dan Saran**

Kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan, ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta*) dapat meningkatkan aktivitas fagositosis monosit yang dipapar *C. albican*. Disarankan, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai komponen utama daun kopi yang berpengaruh terhadap peningkatan aktivitas fagositosis monosit. Perlu dilakukan juga uji toksisitas dan biokompatibilitas terhadap ekstrak daun kopi robusta, serta pengujian lebih lanjut mengenai aplikasi ekstrak daun kopi robusta sebagai 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 Ed. 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): 01-04.
- [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):

Hal. 646-672.

- [7] Vázquez-Torres A, Balish A. Macrophages in Resistance to Candidiasis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1997;61 (2): 170-192.
- [8] Djajakusumah TS. Skripsi The role of immunomodulator in the treatment of sexually transmitted infections. Bandung: FK UNPAD. 2010.
- [9] Ariyanti R. Skripsi Pengaruh pemberian infusa daun sala (*Eugenia polyantha Wight*) terhadap penurunan kadar asam urat darah mencit putih jantan yang diinduksi dengan potassium oksonat. Surakarta: Fakultas Farmasi UMS. 2007.
- [10] Kristiningrum N. Hasil penelitian dosen pemula Potensi Daun Kopi Arabika dan Robusta sebagai antioksidan alami. Jember: UJ. 2014.
- [11] Ratnaningsih T, Asmara W, Sismindari. Polyphenols extracted from the green tea (*Camellia sinensis*) augments the protective immune responses in mice challenged with *Salmonella typhimurium*. *Polyphenols augments immune response* 2004; 13(1).
- [12] Sibuea P. Artikel Minum teh dan khasiatnya bagi kesehatan. Sinar harapan [internet]. 2003. [diakses tanggal 14 Juni 2015]. Available from: <http://www.sinarharapan.co.id/ipetek/kesehatan/2003/1010/kes1.html>
- [13] Durga M, Nathiya S, Devasena T. Immunomodulatory and antioxidant actions of dietary flavonoids. *Int. J. Pharm. Sci.* 2014; 6 (2): 50-56.
- [14] Zhao, Yang, Wang, Liu, Jian. Immunomodulatory and anticancer activities of flavonoids extracter from litchi (*Litchi chinesis Sonn.*) pericarp. *International Immunopharmacology* 2007; 7: 162-166.
- [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: 67-78.
- [17] Natea, Joosten, Meer, Kulberg, Veerdonk. Immune defence against *Candida* fungal infections. *Immunology* 2015; 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): 292-297.
- [19] 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): 573-581.
- [20] 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. Technol.* 2014; 239: 49-57.
- [21] Surati S. Thesis Pengaruh ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap aktivitas makrofag pada mencit Balb/C yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*. Semarang: UNDIP. 2014.
- [22] Dewanti IDAR. Disertasi Efek ekstrak cair daun mimba terhadap fagositosis makrofag pada tikus yang diinokulasi *Candida albicans*. Surabaya: UNAIR. 2008.
- [23] Defrigunawan AI. Skripsi Viabilitas neutrofil yang diinkubasi dengan ekstrak kulit buah kopi dan dipapar *Porphyromonas gingivalis*. Jember: FKG UJ. 2014.
- [24] Hoffbrand AV, Pettit JE. Kapita selekta haematologi. Jakarta: EGC. 1996.
- [25] Arief S. Radikal bebas. Surabaya: FK UNAIR. 2007.
- [26] Jafari M, Azra R. Study of The Effect of Caffeine on Induction of Apoptosis in

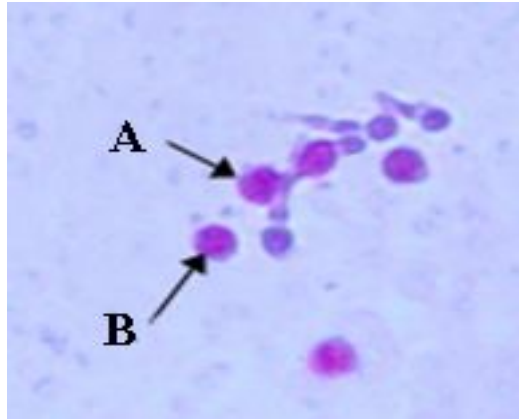
Blood Monocyte Cells. *Journal Daneshvar Medicine*. 2005;12 (56): 13-18.

[27] Leone, J. Isoprinosine Side Effects [internet]. [Place unknown]: Demand Media Inc; 2009 [cited 2016 May 17] Available from: [http://www.ehow.com/about\\_5568787\\_isoprinosine-side-effects.html](http://www.ehow.com/about_5568787_isoprinosine-side-effects.html)

[28] Rahmawati W, Winarsih S, Nurdiana. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta Terhadap Pertumbuhan *C. albicans* secara *In Vitro*. Malang: Universitas Brawijaya. 2013.

## Lampiran

Gambar 1



Gambaran mikroskopik monosit

**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 + EDKR2,5% + *C. albicans*

P2 : Monosit + EDKR 5% + *C. albicans*

P3 : Monosit + EDKR 10% + *C. albicans*

