



## PENGARUH EKSTRAK KELAKAI (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd) TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-10 (IL-10) MENCIT

Denny P.N.H. Margono<sup>1</sup>, Eko Suhartono<sup>2</sup>, Heny Arwati<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Puskemas Sungai Besar Dinkes Kota Banjarbaru, <sup>2</sup>Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, <sup>3</sup>Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya  
email : denny\_margono@yahoo.co.id

**Abstract :** Interleukin-10 as pro-inflammatory cytokines have a role to protect the damage of severe malaria. Kelakai contain bioactive compounds that have anti-inflammatory activity. The purpose of this study was to determine the potential of the extract kelakai on levels of IL-10 in mice BALB / s infected by *P. berghei* ANKA. This study is true experimental studies with post-test-only with Control Group Design. The treatment group was divided into 8 groups. Two groups received kelakai extract per oral 10 mg/kgBW and 100 mg/kgBW. Four groups received kelakai extract per oral 10 mg/kgBW and 100 mg/kgBW 3 hours after infection and when the parasitaemia reaches 15-20%. Negative controls do not receive the extract kelakai and parasitic infections. Positive controls get a parasitic infection. Treatment was given for 4 days. Blood samples were taken 24 hours after the last treatment. Levels of IL-10 were measured by sandwich ELISA method. Data were analyzed with Games Howell test, with a confidence level of 95%. There were no significant differences between treatment groups. Extract kelakai Giving oral dose of 10 mg/KgBW and 100 mg/KgBW not significantly increase the levels of interleukin-10.

**Keywords:** *Stenochlaena palustris* (Burm.f) bedd; Interleukin-10

**Abstrak :** Interleukin-10 sebagai Sitokin pro-inflamasi memiliki peran melindungi kerusakan pada malaria berat. Kelakai mengandung senyawa bioaktif yang mempunyai aktifitas anti-inflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak kelakai terhadap kadar IL-10 pada mencit BALB/s yang diinfeksi *P. berghei* ANKA. Penelitian ini merupakan studi eksperimental murni dengan *Posttest-only with Control Group Design*. Kelompok perlakuan dibagi menjadi 8 kelompok. Dua kelompok mendapat ekstrak kelakai per oral 10 mg/kg berat badan dan 100 mg/kg berat badan. Empat kelompok mendapat ekstrak kelakai per oral 10 mg/kg berat badan dan 100 mg/kg berat badan 3 jam setelah infeksi dan pada saat parasitemia mencapai 15-20%. Kontrol negatif tidak mendapat ekstrak kelakai dan infeksi parasit. Kontrol positif mendapat infeksi parasit. Perlakuan diberikan selama 4 hari. Sampel darah diambil 24 jam setelah perlakuan terakhir. Kadar Il-10 diukur dengan ELISA metode sandwich. Data dianalisa dengan tes Games Howell, dengan tingkat kepercayaan 95%. Tidak didapatkan perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Pemberian Ekstrak kelakai secara oral dosis 10 mg/Kg berat badan dan 100 mg/Kg berat badan tidak signifikan meningkatkan kadar Interleukin-10.

Kata-kata Kunci : *Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd; Interleukin-10

## PENDAHULUAN

Malaria adalah masalah kesehatan utama di sebagian besar negara tropis dan subtropis di dunia. Diperkirakan setiap tahun 300-500 juta jiwa terinfeksi dan angka kematian mencapai 1,5-2,5 juta jiwa (Mohanty, S., et al., 2006) Terdapat 207 juta kasus malaria di seluruh dunia (WHO, 2013). Kasus kematian mencapai 627 ribu dengan kematian pada anak usia < 5 tahun sebanyak 482 ribu (77%). Di Asia tenggara terdapat 28 juta kasus malaria dengan angka kematian sebanyak 38 ribu. 95% kematian terjadi di 3 negara yaitu Indonesia, India, dan Myanmar. Di Indonesia terdapat 6 juta kasus klinis malaria dengan kematian sebanyak 700 orang per tahun (Yotoprano, S., 2013) data Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Selatan hingga tahun 2015, ada 155 desa dan kelurahan (10% jumlah desa dan kelurahan di Kalimantan Selatan) serta 1 kabupaten masuk kategori merah penyakit malaria.

Sebanyak 1-2% infeksi *P. falciparum* menyebabkan komplikasi neurologis yang dikenal sebagai malaria serebral. Eritrosit terinfeksi parasit yang pecah sewaktu proses skizogoni mengeluarkan berbagai toksin dan merangsang makrofag menghasilkan berbagai sitokin. Sitokin yang berperan penting pada pathogenesis malaria yaitu TNF- $\alpha$ , limfotoksin, IFN- $\gamma$ , IL-1, IL-6, dan IL-10. Sitokin yang dihasilkan oleh makrofag merupakan respon imun non-spesifik yang ditujukan untuk menghambat pertumbuhan parasit dengan cara mengaktifkan leukosit menghasilkan radikal bebas yang dapat membunuh parasit. Sitokin juga berperan mengaktifkan sel-sel imun lain seperti limfosit T dan B, sel NK untuk berproliferasi dan menghasilkan lebih banyak lagi mediator kimia lain yang bekerjasama mengatasi infeksi (Maya, DWM. et al., 2008)

Sistem imunitas innate adalah awal pertahanan host sebagai respon terhadap infeksi malaria. Respon inflamasi awal dan kuat pada malaria stadium darah bertujuan mengontrol stadium infeksi akut. Namun inflamasi yang berlebih atau disregulasi melalui produksi sitokin pro-inflamasi, seperti TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , dan IL-6 dapat menuju pada sindrom malaria berat seperti anemia, malaria

serebral dan gagal organ (Hariyanto PN., et al., 2010)

IL-10 mempunyai peran yang penting pada respon sel T helper pada malaria yaitu mencegah sel Th-1 berproliferasi sehingga menekan produksi IFN- $\gamma$ , IL-6, TNF- $\alpha$  oleh sel T, menetralkan patologi dari makrofag pada malaria serebral dengan menghambat sekresi IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$  (Malaguarnera et al, 2002 dalam Irawati et al, 2008). Ketidakhadiran atau netralisasi IL-10 berefek pada peningkatan kadar TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , peningkatan pembersihan parasit (parasite clearance), dan peningkatan angka kematian (Couper et al, 2008).

Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd) adalah salah satu tanaman khas lahan rawa yang tumbuh di Kalimantan Selatan yang juga merupakan makanan favorit orang Dayak di Kalimantan Tengah. Kelakai digunakan masyarakat suku Dayak Kenyah untuk mengobati anemia, pereda demam, dan sakit kulit.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Adenan & Suhartono (2010) menemukan bahwa ekstrak kelakai mengandung zat bioaktif utama berupa flavonoid quercetin yang memiliki efek anti inflamasi. Total flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak air kelakai adalah 14,5  $\mu\text{g/ml}$ . Zat bioaktif lain pada kelakai adalah alkaloid dan steroid. Sebagai antipiretik, alkaloid dan steroid juga memiliki khasiat anti-inflamasi (Adenan & Suhartono, 2010). Alkaloid berfungsi sebagai antipiretik melalui penghambatan sintesis prostaglandin, sedangkan steroid menghambat aktivitas fosfolipase dan perubahan asam arakidonat menjadi prostaglandin, dan menghambat produksi sitokin (Sudjarwo, 2005 dalam Adenan & Suhartono, 2010).

Penelitian peran ekstrak kelakai terhadap malaria sampai saat ini belum pernah dilaporkan. Berdasarkan latar belakang di atas maka penting dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak air kelakai terhadap malaria pada mencit BALB/c yang terinfeksi *P. berghei*, khususnya terhadap kadar IL-10.

**BAHAN DAN METODE**

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian true eksperimental dengan *Posttest-only with Control Group Design*.

Bahan uji dalam penelitian ini adalah ekstrak kelakai yang dibuat dengan cara maserasi. Pelarut yang digunakan adalah DMSO 10% (Dimetil Sulfoksida). Suspensi eritrosit terinfeksi *P.berghei* diinfeksi secara intra-peritoneal kepada mencit uji sebanyak 200 µl.

Pemberian ekstrak kelakai dan larutan artesunat selama 4 hari berdasarkan Peter's test. Dosis ekstrak kelakai sebagai bahan uji yang digunakan adalah 10 mg/kgbb/hari dan 100 mg/kgbb/hari berdasarkan penelitian pendahuluan dengan uji LD50. Untuk dosis 100 mg/kgBB, dengan anggapan berat badan standar mencit adalah 25 g dan volume tiap pemberian adalah 200 µl, banyaknya dosis pemberian 6 ekor x 4 kali pemberian untuk 4 hari x 4 kelompok perlakuan yang mendapat ekstrak kelakai sehingga diperlukan 96 dosis larutan.

Untuk dosis 10 mg/kgBB, dengan anggapan berat badan standar mencit adalah 25 g dan volume tiap pemberian adalah 200 µl, banyaknya dosis pemberian 6 ekor x 4 kali pemberian untuk 4 hari x 4 kelompok perlakuan yang mendapat ekstrak kelakai sehingga diperlukan 96 dosis larutan.

Uji potensi ekstrak kelakai pada infeksi malaria yang dilakukan mengacu pada metode standar Peter's Test (4-Days suppressive test), (Fidock, David A et al.). Mencit dibagi menjadi 8 kelompok perlakuan dan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit. Masing-masing kelompok diberi perlakuan sebagai berikut:

Sehat+EK10: tidak diinfeksi *P.berghei*, diberi EK 10 mg/kgBB

Sehat +EK100: tidak diinfeksi *P.berghei*, diberi EK 100 mg/kgBB

Pb+EK10 3 jam : diinfeksi *P.berghei*, setelah 3 jam diberi EK 10 mg/kgBB

Pb+EK100 3 jam : diinfeksi *P.berghei*, setelah 3jam diberi EK 100 mg/kgBB

Pb+EK10 4 hari : diinfeksi *P.berghei*, setelah 5 hari diberi EK 10 mg/kgBB

Pb+EK100 4 hari : diinfeksi *P.berghei*, setelah 5 hari diberi EK 100 mg/kgBB

KN: Kontrol negatif, tidak diinfeksi *P.berghei* dan tidak mendapat EK

KP: Kontrol positif, diinfeksi *P.berghei*, tidak mendapat EK

D0 adalah pengamatan hari pertama (setelah infeksi 3 jam dan setelah parasitemia mencapai 15-20%). D1 merupakan pengamatan pada hari ke-2, D2 merupakan pengamatan pada hari ke-3, D3 merupakan pengamatan pada hari ke-4. 24 jam setelah perlakuan terakhir (D4), semua mencit dikorbankan (sacrifice) dengan inhalasi eter. Darah diambil dari jantung untuk pemeriksaan kadar IL-10 dengan ELISA.

Sampel berupa darah mencit yang telah diberi perlakuan diambil dari jantung mencit sebanyak lebih kurang 1 ml, ditampung di dalam tabung dan disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm suhu 4°C selama 15 menit untuk mendapatkan plasma.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Tabel 1. Rerata kadar IL-10 pada setiap kelompok

Kelompok	Mean IL-10 (pg/ml)	± SD
Kontrol Positif (KP)	56,47	24,44
Sehat + EK 10	10,67	5,19
Sehat+EK100	9,47	3,17
Pb+EK10 3 jam	58,07	53,09
Pb+EK100 3 jam	23,13	13,90
Pb+EK10 5 hari	25,13	18,44
Pb+EK100 5 hari	109,33	24,86
Kontrol Positif (KP)	56,47	24,44

Hasil penelitian ini mendapatkan bahwa infeksi *P. berghei* ANKA dapat meningkatkan kadar IL-10 pada semua kelompok mencit yang diinfeksi *P. berghei* (Tabel 1) dibandingkan dengan mencit sehat yang tidak diinfeksi, baik pada kelompok yang diberikan EK 10 mg/kgBB maupun yang diberikan EK 100 mg/kgBB. Secara statistik didapatkan hasil yang bervariasi yaitu berbeda bermakna dan tidak berbeda bermakna.

Kelompok KP meningkatkan kadar IL-10 dan secara statistik berbeda bermakna bila dibandingkan dengan mencit sehat yang tidak diinfeksi dan mendapat EK 10 mg/kgBB ( $p = 0,027$ ) serta 100 mg/kgBB ( $p = 0,026$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa infeksi *P. berghei* dapat meningkatkan rerata kadar IL-10.

Pemberian EK dosis 10 mg/kgBB 3 jam setelah mencit diinfeksi *P. berghei* diperoleh rerata kadar IL-10 lebih tinggi dibandingkan KP. Secara statistik hasil ini tidak berbeda bermakna dengan nilai  $p = 1,000$ . Selanjutnya pemberian EK dosis 10 mg/kgBB 5 hari setelah mencit diinfeksi *P. berghei* atau setelah parasitemia mencapai 15-20% diperoleh rerata kadar IL-10 lebih tinggi daripada kelompok sehat+EK10 namun lebih rendah daripada KP dan Pb+EK10 3 jam. Secara statistik hasil tidak berbeda bermakna dengan nilai  $p = 0,247$  ( $p > 0,05$ ) terhadap KP, nilai  $p = 0,516$  terhadap kelompok sehat+EK10, dan nilai  $p = 0,595$  terhadap kelompok Pb+EK10 3 jam. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian EK 10 mg/kgBB pada mencit yang diinfeksi dengan *P. berghei* pada penelitian ini belum dapat meningkatkan rerata kadar IL-10 secara signifikan.

Pemberian EK dosis 100 mg/kgBB 3 jam setelah mencit diinfeksi *P. berghei* menyebabkan rerata kadar IL-10 lebih tinggi daripada kelompok sehat + EK 100 namun lebih rendah daripada KP. Secara statistik hasil ini tidak berbeda bermakna terhadap KP ( $p = 0,170$ ) dan terhadap kelompok sehat+EK100 ( $p = 0,341$ ). Selanjutnya pemberian EK dosis 100 mg/kgBB 5 hari setelah mencit diinfeksi *P. berghei* atau setelah parasitemia mencapai 15-20% memperoleh rerata kadar IL-10 tertinggi daripada kelompok perlakuan yang lain. Hasil ini apabila dibandingkan dengan KP tidak berbeda secara bermakna dengan nilai  $p = 0,055$  ( $p > 0,05$ ). Secara statistik didapatkan hasil berbeda bermakna ( $p = 0,002$ ) terhadap kelompok *P. berghei* + EK 100 3 jam. Secara statistik berbeda bermakna pula ( $p = 0,002$ ) dengan kelompok *P. berghei* + EK 10 5 hari.

Berdasarkan hasil tersebut di atas menunjukkan bahwa EK dosis 100 mg/kgBB per hari yang diberikan setelah mencit diinfeksi dengan *P. berghei* 5 hari atau setelah parasitemia mencapai 15-20% memiliki kecenderungan meningkatkan kadar IL-10, namun hasil

ini tidak berbeda bermakna apabila dibandingkan dengan kelompok KP. Hal ini kemungkinan karena dosis EK 100 mg/kgBB yang diberikan masih terlalu rendah sehingga belum dapat meningkatkan produksi IL-10 secara signifikan.

Pada infeksi malaria, kemampuan imunitas innate untuk mengatasi infeksi malaria belum dapat menghasilkan suatu kesimpulan karena terdapat dua respon yang saling bertentangan. Respon pro-inflamasi yang kuat dan cepat berpotensi untuk mengendalikan infeksi yang apabila telah sampai saatnya akan diambil alih oleh respon imun adaptive. Akan tetapi, respon imun innate yang kuat dan cepat ini dapat mengakibatkan malaria berkembang menjadi penyakit yang berat.

Pada mencit dan manusia, peran sitokin yang berefek imunoregulator terdapat pada IL-10 dan TGF- $\beta$  yang keduanya diproduksi oleh makrofag pada sistem imun innate dan sel T pada sistem imun adaptive. Pada penelitian ini digunakan ekstrak kelakai pada 3 jam setelah infeksi *P. berghei*. Pada saat ini imunitas innate merespon dengan produksi IL-10. Hal ini ditunjukkan oleh rerata kadar IL-10 pada kelompok PB + EK 10 3 jam dan Pb + EK 100 3 jam lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok Sehat + EK 10 maupun Sehat + EK 100. Tetapi secara statistik hasil ini tidak berbeda bermakna. Hasil ini menunjukkan bahwa dosis EK 10 mmg/kg BB maupun EK 100mg/kgBB pada 3 jam setelah infeksi *P. berghei* tidak signifikan pada kenaikan kadar IL-10.

Sel T CD4+ berperan penting pada respon imun adaptive. *Regulatory T cell* (Tregs) merupakan populasi ketiga dari sel T CD4+ dan mulai dikenal pada respon imun terhadap malaria. peran utama Tregs adalah memodulasi produksi IL-10 yang membantu mengurangi imunopatologi pada infeksi malaria dengan menekan sitokin pro-inflamatori. Apabila sitokin ini terlalu awal terinduksi akan menyebabkan penurunan kapasitas proteksi dan berakibat pada multiplikasi parasit yang tidak terkendali (Dachlan, 2013).

Pada penelitian ini dosis EK 100 mg/kgBB yang diberikan 5 hari setelah penginfeksian *P. berghei*, atau pada saat parasitemia mencapai 15-20% menimbulkan rerata kadar IL-10 lebih tinggi dari pada rerata kadar IL-10 pada kelompok lain.

Hal ini menunjukkan bahwa EK pada dosis 100 mg/kgBB dapat berperan sebagai imunomodulator yang dapat memodulasi produksi sitokin IL-10 pada infeksi *P. berghei*. Namun secara statistik hasil ini tidak berbeda bermakna apabila dibandingkan dengan kelompok KP. Hal ini diduga karena dosis EK 100 mg/kgBB yang diberikan masih terlalu rendah sehingga belum dapat meningkatkan produksi IL-10 secara signifikan

Peningkatan kadar IL-10 dapat disebabkan oleh efek flavonoid yang terkandung di dalam EK. Flavonoid dapat meningkatkan sistem imun dengan jalan meningkatkan aktivitas limfosit T. Sumber terbesar IL-10 berasal dari subset sel T yaitu sel Th1, Th2, Tr1 dan Treg (Niikura et al, 2011). IL-10 adalah sitokin anti-inflamasi yang diproduksi oleh sel monosit, sel T dan sel-sel lain sebagai respon terhadap beberapa sitokin pro-inflamasi, terutama oleh sel monosit/makrofag. IL-10 menunjukkan efek down-regulasi terhadap sitokin pro-inflamasi dan dapat memproteksi efek yang merusak akibat produksi yang berlebihan. IL-10 juga menghambat aktivitas kostimulator makrofag, kemungkinan melalui penghambatan ekspresi MHC kelas II dan kostimulator molekul monosit. IL-10 dapat pula menghambat LPS yang menginduksi pelepasan sitokin oleh eosinofil. IL-10 menunjukkan efek stimulasi pada pertumbuhan sel B dan diferensiasinya (Kumar dan Creery, 2000; Niikura et al, 2011; Baratawidjaja dan Rengganis, 2014).

## KESIMPULAN

Ekstrak kelakai 10 mg/KgBB dan 100 mg/KgBB yang diberikan 5 hari dan segera setelah mencit BALB/c diinfeksi *P. berghei* ANKA tidak signifikan meningkatkan kadar IL-10.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adenan, and Suhartono E., (2010). *Stenochlaena palustris* aqueous extract reduces hepatic peroxidative stress in *Marmota calligata* with induce fever. *Universa Medicina*, vol.29, no.3.
- Dachlan Y P. (2013). 'Sistem Imun Innate pada Manusia', dalam : *Imunologi Malaria* (editor). Yoes Prijatna Dachlan, Agung Dwi Wahyu Widodo, Boerhan Hidayat. Surabaya: RSPTI-Universitas Airlangga.
- Fidock, David A et al. Antimalarial Drug Discovery : Efficacy Model for Compound-Screening (Supplementary Document).
- Hafid, Achmad Fuad et al. (2011). Model Terapi Kombinasi Ekstrak Etanol 80% Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus Champeden Spreng.*) dan Artesunat pada Mencit Terinfeksi Parasit Malaria. *J. Indon Med Assoc*, volum : 61, No.4 April.
- Hariyanto, P.N. et al. (2010). *Malaria dari Molekuler ke Klinis*. Edisi 2. EGC : Jakarta.
- Maya D W Matondo, Mewono L., Nkoma A M., Issifou S., and Mavoungou E. (2008). Markers of vascular endothelial cells damage and *P.falciparum* malaria : association between levels of both sE-selectine and thrombomodulin, and cytokines, hemoglobin and clinical presentation. *Eur Cytokine Netw*, vol.19 no.3, September 2008, 123-30.
- Mohanty S., Patel D K., Pati S S., and Mishra S K., (2006). Adjuvant therapy in cerebral malaria. *Indian J Med Res*, September 2006, pp 245-260.
- udjarwo S A. (2005). The Potency of Piperine as Antiinflammatory and Analgesic in Rats and Mice. *Folia Medica Indonesiana*, vol.41, no.3.
- Suhartono E., Bakhriansyah M., dan Handayani R. (2010). Efek Ekstrak *Stenochlaena palustris* terhadap jumlah circulating endothelial cells *Marmota calligata* setelah didemamkan. *Majalah Farmasi Indonesia*, 21(3), 166-170, 2010.
- WHO. (2013). World Malaria Report. [http://www.who.int/malaria/world\\_malaria\\_report\\_2013/en/](http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2013/en/). diakses 6 April 2015.
- Yotoprano, S. (2013). 'Vektor Malaria', dalam : *Imunologi Malaria* (editor). Yoes Prijatna Dachlan, Agung Dwi Wahyu Widodo, Boerhan Hidayat. Surabaya : RSPTI-Universitas Airlangga.