

POTENSI IMUNOMODULATOR EKSTRAK ETANOL BUAH KECOMBRANG (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Smith) TERHADAP AKTIVITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG MENCIT JANTAN GALUR BALB/C

Wahyuni¹, Muh.Hajrul Malaka¹, Adryan Fristiohady¹, Muhammad Ilyas Yusuf¹,
Sahidin¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo Kendari Sulawesi Tenggara
Email : wahyunimipa@gmail.com

ABSTRACT

Kecombrang (Etilingera elatior (Jack) R.M. Smith) has been used as traditional medicine and food ingredient empirically. This research was conducted to find out the influence of the ethanol fruit extracts of Etilingera elatior against the activity of macrophage phagocytosis. Various dose of the ethanol fruit extracts of Etilingera elatior were given orally to male mice strain Balb/c with each extract (100, 200, 300 or 400 mg/kg). As positive control, 0,13 mg/kg of Phyllanthus niruri Linn extract (Stimuno) was used and 0.5% Carboxymethylcellusoe Sodium as negative control. Extracts were given for seven day and on the eighth day all mice were injected by Staphylococcus aureus intraperitoneally. The activity of macrophage cels was counted by smear of periotenal fluid. The higher dosage of the extract, the more number of macrophage phagocytosis activity from 36.50% (Carboxymethylcellusoe Sodium), 45.75% (100mg/kg), 59.70% (200mg/kg), 61% (300 mg/kg) and 71,25% (400 mg/kg). The result showed that 300 mg/kg and 400 mg/kg of the ethanol fruit extracts of Etilingera elatior caused a significant immunomodulatory effect compare to the activity of Stimuno to increasing the activity of cell macrophage phagocytosis by statistical tests post hoc TUKEY (sig > 0.05).

Keywords : *Etilingera elatior (Jack) R.M.Smith., Macrophage, Immunomodulator*

ABSTRAK

Kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith) secara empiris telah digunakan dalam pengobatan dan sebagai bahan pangan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kecombrang terhadap daya fagositosis makrofag. Sediaan uji berupa ekstrak etanol buah kecombrang yang diberikan secara oral terhadap mencit jantan galur Balb/C dengan dosis 100mg/KgBB, 200mg/KgBB, 300mg/KgBB dan 400mg/KgBB. Ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn.(Stimuno®) dosis 0,13 mg/gBB digunakan sebagai kontrol positif dan NaCMC 0,5% sebagai kontrol negatif. Ekstrak diberikan sejak hari pertama hingga ketujuh. Pada hari kedelapan masing-masing mencit diinjeksikan bakteri *Staphylococcus aureus* (SA) secara intraperitoneal. Aktivitas sel makrofag dihitung dari apusan cairan peritoneum. Peningkatan dosis ekstrak etanol buah kecombrang meningkatkan jumlah aktivitas fagositosis makrofag dari 36,50% (Na CMC), 45,75% (100mg/kgBB), 59,70% (200mg/kgBB), 61% (300mg/kgBB), 71,25% (400mg/kgBB). Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah kecombrang memiliki potensi sebagai imunomodulator pada dosis 300 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB dengan efektivitas yang tidak berbeda jauh dengan stimuno dalam meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag hasil uji statistik *post hoc* TUKEY (sig. > 0,05).

Kata kunci : *Etilingera elatior (Jack) R.M.Smith., Makrofag, Imunomodulator*

PENDAHULUAN

Sistem pertahanan tubuh atau disebut juga dengan sistem imun merupakan sistem yang bertanggung jawab melindungi tubuh dari benda-benda asing yang masuk sehingga fungsi tubuh tidak terganggu. Sistem kekebalan tubuh ini terdiri dari dua sistem, yaitu imun alami (non spesifik) dan imun spesifik. Sistem imun non spesifik merupakan pertahanan pertama terhadap mikroorganisme atau benda benda asing yang masuk dalam tubuh. Salah satu upaya yang dilakukan sistem imun non-spesifik dalam mempertahankan diri terhadap masuknya antigen yaitu dengan cara menghancurkan antigen melalui proses fagositosis. Proses fagositosis yang efektif pada invasi mikroorganisme dini dapat mencegah timbulnya penyakit (Masurin dan Chairul, 2012).

Sel-sel yang berperan dalam memfagositosis antigen antara lain sel makrofag. Makrofag merupakan fagosit profesional, yang bertanggung jawab dalam memusnahkan sel yang terinfeksi patogen intraseluler dimana aktivitas fagositosis makrofag dapat ditingkatkan dengan zat-zat yang bersifat imunomodulator (Akrom dkk, 2015). Imunomodulator adalah substansi atau obat yang dapat memodulasi fungsi dan aktivitas sistem imun. Senyawa-senyawa yang dapat memodulasi sistem imun dapat diperoleh dari tanaman.

Kecombrang merupakan salah satu family Zingiberacea dan merupakan tanaman asli Indonesia. Buah kecombrang dikenal dengan nama *wualae* oleh masyarakat di daerah Konawe Sulawesi Tenggara sebagai bahan penyedap masakan. Selain itu secara empiris di kabupaten Kolaka Utara Sulawesi Tenggara

buah *wualae* juga digunakan sebagai obat dalam pemulihan penyakit demam tifoid. *E.elatior* mengandung senyawa bioaktif seperti polifenol, alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan minyak atsiri (Handayani dkk, 2014). Sampai saat ini belum ada penelitian mengenai efek imunomodulator buah kecombrang. Berdasarkan uji pendahuluan yang dilakukan dengan menggunakan ekstrak etanol buah kecombrang pada dosis 100mg/kgBB menunjukkan adanya peningkatan aktivitas fagositosis makrofag pada mencit jantan yang diinduksi dengan bakteri *S.aureus*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat dalam penelitian ini adalah Rotary evaporator (Buchi[®]), autoklaf, blender (Philips), erlenmeyer (Pyrex), timbangan analitik (Precisa[®]), gelas ukur (Pyrex[®]), gelas kimia, oven (*Gallenkamp Civilab-Australia*), inkubator, botol vial, neraca analitik (Stuart), *Laminar Air Flow* (LAF) bunsen, pipet tetes, pipet ukur, tabung reaksi, batang pengaduk, kertas saring, botol gelap, toples, cawan porselin, kaca objek, kaca preparat, mikroskop elektrik, spektrofotometer 20 D, kuvet, stirrer, pinset dan pisau bedah, elektromantel, ose bulat, spoit, kandang mencit. Bahan dalam penelitian ini adalah buah kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R.M Smith), mencit jantan galur Balb/C, *Staphylococcus aureus*, kapas, tissue, aluminium foil, etanol 96%, alkohol 70%, metanol, aquadest, Na-CMC 0,5%, NaCl fisiologis, *phosphate buffered saline* (PBS), eter, pewarna giemsa, minyak emersi, *nutrient agar* (NA), ekstra meniran komersional (Stimuno[®]).

Prosedur Kerja

Penyiapan Simplisia Buah kecombrang

Buah kecombrang dikumpulkan, dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari yang dilapisi kain hitam kemudian dihaluskan hingga diperoleh serbuk simplisia.

Pembuatan ekstrak buah kecombrang

Sebanyak 1,8 Kg dimasukan kedalam wadah tertutup dan direndam dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam. Perbandingan 1:2 (jumlah pelarut yang digunakan dua kali dari jumlah serbuk halus tanaman). Setiap 1 x 24 jam dilakukan penyaringan dan penggantian pelarut baru sehingga diperoleh filtrat I, II, dan III. Filtrat dikumpulkan dan dipekatkan dengan penguapan berputar menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak ditimbang untuk mengetahui bobotnya.

Penyiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan sehat galur Balb/C dengan berat 20-30g. Hewan uji diberi makan dan minum, dan diaklimatisasi selama 7 hari sebelum melakukan percobaan⁵. Hewan uji dikelompokkan menjadi 6 kelompok dimana setiap kelompok terdiri dari 5 hewan uji.

Pemberian bahan uji

Kelompok hewan uji terdiri dari kelompok perlakuan (dosis 100 mg/kg BB, dosis 200 mg/kg BB, dosis 300 mg/kg BB, dosis 400 mg/kg BB), kelompok kontrol positif (ekstrak meniran komersial[®]) dosis 0,13mg/KgBB dan kelompok kontrol negatif (Na.CMC 0,5%). Perlakuan dilakukan setiap 1 hari sekali selama 7 hari secara peroral sesuai dengan volume pemberian.

Penyiapan bakteri uji

Bakteri uji yang digunakan *Staphylococcus aureus* (SA) yang ditanam

pada media agar nutrien miring dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35-37°C⁸. Bakteri *S. aureus* yang telah diinkubasi selama 24 jam, disuspensikan dalam NaCl fisiologis 0,9%. Kekeruhan bakteri diukur sesuai dengan standar Mc Farlan 0,5.

Uji fagositosis

Pada hari kedelapan setiap mencit diinfeksi dengan 0,5 mL suspensi bakteri SA dan secara intraperitoneal, dibiarkan selama satu jam. Mencit dianastesi dengan eter lalu dibedah perutnya dengan menggunakan gunting bedah dan pinset steril. Jika ditemukan cairan peritoneum dalam jumlah sedikit pada perut, maka ditambahkan larutan *Phosphat buffered saline* (PBS) pH 7,8 steril sebanyak 1-2ml, kemudian diambil cairan peritoneum dengan spoit 1 cc. Cairan peritoneal dipulas pada gelas obyek dan difiksasi dengan metanol selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan pewarnaan Giemsa 10%, didiamkan 20 menit, dibilas dengan air mengalir. Setelah sediaan kering, dilihat di bawah mikroskop menggunakan minyak emersi dengan perbesaran (10x–100x)(Nugroho, 2012).

Menghitung Aktivitas Fagositosis Makrofag

Aktivitasimunostimulan ditentukan dengan menghitung aktivitas fagositosis sel makrofag peritonium mencit. Nilai aktivitas fagositosis (SPA) adalah persentase sel makrofag yang aktif melakukan proses fagositosis di antara 100 sel makrofag(Masurin dan Chairul, 2012).

$$\text{Aktivitas fagositosis} = \frac{\text{jumlah sel makrofag aktif}}{\text{jumlah sel makrofag total}} \times 100$$

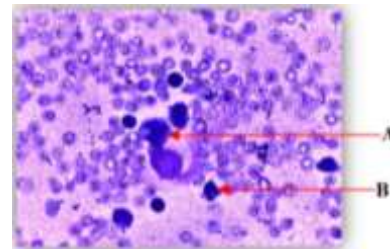
Analisis Data

Untuk mengetahui adanya

perbedaan pengaruh ekstrak etanol buah *wualae* dari berbagai dosis terhadap aktivitas fagositosis sel makrofag digunakan uji ANOVA satu arah yang dilanjutkan dengan uji *Tukey*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

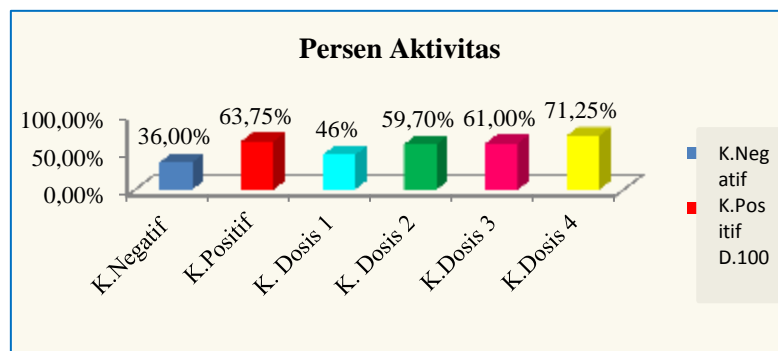
Peningkatan aktivitas makrofag ditandai dengan bentuk dan ukuran makrofag yang bertambah besar dengan penjurulan pseudopodi yang sangat bervariasi. Fagosomnya muncul membran yang menjadi lebih berliku-liku, lisosom menjadi lebih banyak, aparat golgi membesar dan retikulum endoplasma kasar berkembang Gambar 1.



Gambar 1: Apusan darah tipis perbesaran 1000x (A) Makrofag aktif, (B) Makrofag tidak aktif

Nilai aktivitas fagositosis makrofag peritoneum mencit dapat dihitung dari makrofag yang aktif melakukan fagositosis diantara 100 jumlah sel yang dinyatakan dalam bentuk persen.

Adapun grafik peningkatan aktivitas fagositosis dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2: Grafik peningkatan aktivitas fagositosis sel makrofag

Berdasarkan grafik diatas dapat dilihat bahwa aktivitas fagositosis makrofag semakin meningkat seiring dengan peningkatan dosis sediaan. Pada dosis 400mg/kgBB menunjukkan persen aktivitas fagositosis tertinggi yaitu sebesar 71.25% yang lebih tinggi dari kelompok kontrol positif sebesar 63.75%. Hasil uji skrining fitokimia buah *wualae* menunjukkan bahwa buah *wualae* memiliki kandungan senyawa flavonoid. Flavonoid memiliki kemampuan meningkatkan sistem imunomodulator dengan meningkatkan efektivitas proliferasi limfokin yang

dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis (Santoso dkk, 2013). Pada penelitian sebelumnya telah terbukti bahwa flavonoid meningkatkan aktivasi sel efektor seperti limfosit, makrofag yang memproduksi dan melepaskan sitokin, interleukin IL-1; IL-6; IL-12; tumor nekrosis faktor alpha (TNF alpha). Dosis flavonoid yang lebih tinggi membuat sel leukosit (fagosit) lebih aktif terhadap sel bakteri fagosit, dan lebih banyak bakteri yang dapat dirusak dan

dicerna dengan sel leukosit (Zalizar, 2013).

Tabel 1. hasil uji *post hoc* Tukey

Kelompok	Perbandingan					
	Dosis 100mg/KgBB	Dosis 200mg/KgBB	Dosis 300mg/KgBB	Dosis 400mg/KgBB	K (+)	K(-)
Dosis 100mg/KgBB	-	-14.000(*)	-15.250(*)	-25.500(*)	-18.000(*)	9.25
Dosis 200mg/KgBB	14.000(*)	-	-1.25	-11.500(*)	-4	23.250(*)
Dosis 300mg/KgBB	15.250(*)	1.25	-	-10.250(*)	-2.75	24.500(*)
Dosis 400mg/KgBB	25.500(*)	11.50000(*)	10.250(*)	-	7.5	34.750(*)
K (+)	18.000(*)	4.00000	4	2.75	-	27.250(*)
K(-)	-9.25	-23.250(*)	-24.500(*)	-34.750(*)	27.250(*)	

Keterangan :

* Perbedaan bermakna dengan sig < 0,05

Data hasil uji *post hoc* Tukey Tabel 1 menunjukkan pada dosis 200mg/KgBB, 300mg/KgBB dan 400mg/KgBB tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif, yang artinya pada dosis 200mg/KgBB, 300mg/KgBB dan 400mg/KgBB memiliki aktivitas yang sama dengan kontrol positif ekstrak *P. niruri* L. Namun pada dosis 400mg/kgBB menunjukkan peningkatan aktivitas yang lebih baik dibanding dengan dosis 200mg/kgBB, 300mg/kgBB, dan kontrol positif.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa aktivitas fagositosis makrofag semakin meningkat dengan peningkatan dosis sediaan. Pada dosis 400 mg/kgBB menunjukkan persen aktivitas fagositosis tertinggi yaitu sebesar 71.25%. Kandungan senyawa flavonoid diduga memiliki kemampuan meningkatkan sistem imunomodulator dengan meningkatkan efektivitas proliferasi limfokin yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aldi, Y., Rasyadi, Y., dan Handayani, D., 2014, Aktivitas Imunomodulator dari Ekstrak Etanol Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) terhadap Ayam Broiler, *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, **1(1)**:20-26.
- Akrom, Widjaya, A., dan Armansyah, T., 2015, Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Meningkatkan Aktivitas Fagositosis Makrofag Mencit Swiss Yang Diinfeksi *Lysteria monocytogenes*, *Jurnal Kedokteran Hewan*, **9(2)**:94-100.
- Chairul dan Praptiwi, 2011, Uji Efektivitas Imunomodulator Tiga jenis Zingiberaceae Secara In-Vitro Melalui Pengukuran Aktivitas Sel Makrofag Dan Kapasitas Fagositosis, *Jurnal Botani*, **2(1)**.
- Handayani, V., Ahmad, A.R., dan Sudir,

- M., 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH, *Pharmaci Science Research*, **1(2)**:86-93.
- Masurin, S., Chairul, 2012, Efek Ekstrak Air Dan Alkohol Pada Siwak (*Salvadora Persica* L.) Terhadap Peningkatan Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag, *Media Litbang Kesehatan*, **22(1)**:38-44.
- Nugroho, Y.A., 2012, Efek Pemberian Kombinasi Buah Sirih (*Piper Betle* L) Fruit, Daun Miyana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. BR.) Leaf, Madu Dan Kuning Telur Terhadap Peningkatan Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag, *Media Litbang Kesehatan*, **22(1)**:1-5.
- Santoso, T.A, Diniatik, dan Kusuma, A.M., 2013, Efek Immunostimulator Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L Merr) Terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag, *Pharmacy*, **10(1)**:63-70.
- Tasia, W.R.N., dan Widyaningsih, T.D., 2014, Potensi Cincau Hitam (*Mesona Palustris* Bl.), Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) Dan Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Sebagai Bahan Baku Minuman Herbal Fungsional, *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, **2(4)**:128-136.
- Zalizar, Lili, 2013, Flavonoids of *Phylanthus Niruri* as Immunomodulators A Prospect to Animal Disease Control, *Journal of Science and Technology*, **3(5)**:529-532.