

EFEK IMUNOMODULATOR EKSTRAK DAUN KETEPENG CINA (*Cassia alata* L.) TERHADAP AKTIVITAS DAN KAPASITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG

Kusmardi¹, Shirly Kumala², Enif Esti Triana²

1. Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta 10430, Indonesia

2. Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta 12640, Indonesia

E-mail: kusmardis@fk.ui.ac.id; kusmardis@yahoo.com

Abstrak

Ketepeng Cina (KC) (*Cassia alata* L.) telah dilaporkan memiliki potensi untuk merangsang respon imun. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol KC terhadap aktivitas dan kapasitas makrofag. Duapuluh empat ekor mencit Swiss dibagi ke dalam 6 kelompok. Kelompok kontrol pertama (Group I) mendapatkan *phytohemagglutinin*, kontrol kedua (group II) mendapatkan CMC Na 0,5%, kontrol ketiga (group III) mendapatkan akuades. Sedangkan kelompok perlakuan: group IV mendapatkan 42 mg ekstrak etanol KC/20 g BB, group V 84 mg/20 BB dan dan group VI 168 mg/20 g BB. Ekstrak diberikan sejak hari pertama hingga ketujuh. Pada hari kedelapan, kepada masing-masing mencit diinjeksikan intraperitoneal bakteri *Staphylococcus aureus* (SA). Aktivitas dan kapasitas sel makrofag dihitung dari sedimen apus cairan peritoneum dengan menghitung persentase fagosit yang melakukan fagositosis dari 100 fagosit. Kapasitas fagositosis ditetapkan berdasarkan jumlah SA yang difagositosis oleh 50 fagosit aktif. Aktivitas fagositosis meningkat seiring dengan peningkatan dosis ekstrak etanol KC. Aktivitas dan kapasitas terendah terjadi pada kelompok kontrol (Kelompok II dan III), meningkat pada kelompok IV, V, kontrol positif (Kelompok I) dan Kelompok VI.

Abstract

The Effect of Ethanol Extract of Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) on the Macrophages Activities and Capacities. Ketepeng cina (KC) (*Cassia alata* L.) has already been reported to stimulate the immune response. The current study investigates the role of KC on mice macrophages activities and capacities. Twenty four Swiss mice were divided into 6 equal groups. The first control group (Group I), received phytohemagglutinin. The second control group (Group II), was given CMC Na 0,5%. The third control group (Group III), was given aquadest. The cases group: group IV received 42 mg ethanol extract of KC/20 g BW, group V received 84 mg/20 BW, and group VI received 168 mg/20 g BW. These were administered orally on day 1 until 7. On day 8, *Staphylococcus aureus* (SA) were injected intraperitoneally. The macrophages activities and capacities were counted on slide smears of mice peritoneal fluid. According to enhancement of dose, either the macrophages activities or capacities were found. The lowest activity encounter on the negative control (group II and III) followed by Group IV, V, positive control (group I) and group VI.

Keywords: macrophage, ketepeng cina, Cassia alata, mice

1. Pendahuluan

Immunologic surveillance yang dilakukan oleh sistem imun baik selular maupun humoral berhubungan dengan keberadaan mikroba patogen dan jaringan tumor di dalam tubuh. Makin baik peran yang ditunjukkan oleh fungsi dan jumlah sel imunokompeten, makin baik fungsi *immunologic surveillance* yang dilakukan¹.

Pada keadaan di mana fungsi dan jumlah sel imunokompeten kurang adekuat, upaya peningkatan melalui pemberian imunostimulator menjadi sangat vital. Penggunaan imunostimulator dalam terapi, kadang kala mengalami hambatan. Di antara hambatan yang sering kali muncul adalah mahalnya imunostimulator yang tersedia di pasar obat berpaten, yang mayoritas diimpor dari luar negeri. Dalam keadaan demikian, sangatlah perlu dipertimbangkan

untuk memperoleh imunostimulator dari bahan alam, oleh karena faktor harga dapat ditekan².

Indonesia, sudah terkenal merupakan negara yang kaya bahan alam. Salah satu bahan alam yang memiliki potensi untuk diteliti adalah Ketepeng Cina (*Cassia alata*/KC). Selama ini KC banyak dimanfaatkan secara tradisional, antara lain adalah sebagai antiparasit, laksan, kurap, kudis, panu, eksem, malaria, sembelit, radang kulit bertukak, sifilis, herpes, influenza dan bronchitis³⁻⁷. Mengingat pemanfaatannya yang cukup luas spektrumnya terutama pada penyakit infeksi, sangat mungkin efek yang ditimbulkan adalah efek positif sebagai imunostimulator. Untuk menguji hal itu, penelitian dilakukan untuk melihat pengaruhnya terhadap peningkatan aktivitas dan kapasitas makrofag^{8,9}.

Makrofag merupakan salah satu sel yang berperan penting dalam respon imun, baik berperan fungsional dalam fagositosis maupun perannya sebagai *antigen presenting cells* (APC)^{10,11}. Dalam melakukan kedua peran tersebut, bantuan mediator endogen seperti sitokin, sudah pasti dibutuhkan. Sedangkan kebutuhan akan mediator eksogen seperti karoten dan flavonoid, masih perlu penelitian mendalam¹⁰.

Flavonoid, seperti halnya karotenoid, menurut penelitian yang telah ada, berpotensi sebagai antioksidan pada pertumbuhan tumor serta dengan sedikit penelitian terbukti meningkatkan respon imun walaupun masih banyak kontroversi yang dijumpai. Kontroversi ini terjadi karena mekanisme aktivasinya belum dapat dijelaskan⁹.

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan gambaran berharga kepada masyarakat tentang batas keamanan ekstrak daun ketepeng cina (EDKC), sehingga dapat dijadikan acuan untuk penggunaan selanjutnya dalam pemanfaatan daun KC sebagai obat.

2. Metode penelitian

Hewan coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit galur Swiss berumur 4-6 bulan, berat badan 20-25 g. Sebelum digunakan sebagai hewan percobaan, semua mencit dipelihara terlebih dahulu selama kurang lebih satu minggu untuk penyesuaian lingkungan, mengontrol kesehatan dan berat badan serta menyangatkan makanannya.

Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Imunopatologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Laboratorium Penelitian Mahasiswa dan Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Pancasila, Jakarta.

Ekstraksi Daun Ketepeng cina

Daun Ketepeng Cina yang diperoleh di kebun penelitian BALITRO, kemudian dideterminasi di Balai Penelitian Biologi, Herbarium Bogoriense Bogor dan diekstraksi secara maserasi dengan etanol 70% di Balai Penelitian Tanaman Obat Dan Aromatik, Bogor.

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk kering dari daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) dimaserasi dengan 10 bagian pelarut etanol 70% lakukan pengocokkan selama 2 jam, kemudian diendapkan 24 jam, disaring, sehingga diperoleh filtrat ke1 dan ampas, kemudian ampas dilarutkan kembali dengan pelarut etanol 70%, dilakukan pengocokkan lagi selama 2 jam, kemudian didiamkan selama 1 jam dan disaring diperoleh filtrat ke2 dan ampas, lalu filtrat digabung (1 dan 2), dan diuapkan atau dipekatkan dengan rotavapor pada suhu 40-50° C hingga diperoleh ekstrak kental¹²⁻¹⁴.

Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* (SA) yang ditanam pada media agar nutrisi miring dan disuspensikan dalam larutan Kaldu pepton¹⁵⁻¹⁷.

Pemberian EDKC per oral

Semua kelompok hewan coba dikelompokkan secara acak dengan dibagi menjadi 6 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor mencit. Semua pemberian dilakukan per oral setiap hari selama 1 minggu. Kelompok I sebagai kontrol positif, mencit diberikan PHA. Kelompok II sebagai kontrol negatif, mencit diberikan CMC Na. Kelompok III sebagai kontrol normal, mencit diberikan aquadest. Kelompok IV diberikan EDKC dengan dosis 42 mg/20gBB. Kelompok V diberikan EDKC dengan dosis 84 mg/20gBB. Kelompok VI diberikan EDKC dengan dosis 168 mg/20gBB.

Uji fagositosis

Pada hari kedelapan, setiap mencit diinfeksi intraperitoneal dengan 0,5 mL suspensi bakteri SA dan dibiarkan selama satu jam. Mencit dieuthanasi dengan eter lalu dibedah perutnya dengan menggunakan gunting bedah dan pinset steril. Cairan peritoneum diambil dengan menggunakan pipet mikro. Cairan peritoneal dipulas pada gelas obyektif dan difiksasi dengan metanol selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan pewarnaan Giemsa, didiamkan 20 menit, dibilas dengan air mengalir. Setelah sediaan kering, dilihat di bawah mikroskop menggunakan minyak imersi dengan perbesaran (10x-100x) dihitung aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag. Aktivitas fagositosis ditetapkan berdasarkan jumlah sel fagosit yang aktif melakukan proses fagositosis dalam 100 sel fagosit. Kapasitas fagositosis ditetapkan berdasarkan jumlah bakteri SA yang difagositosis oleh 50 sel fagosit aktif¹¹.

Analisis Data

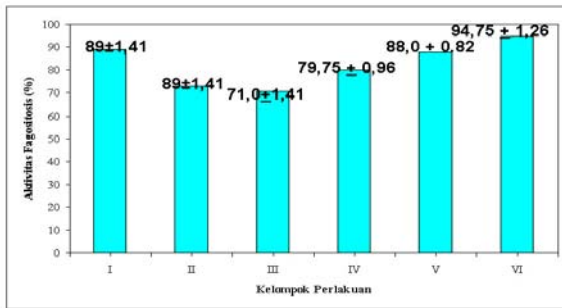
Untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh EDKC dari berbagai dosis terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag digunakan uji ANOVA satu arah yang dilanjutkan dengan uji BNT (Tukey HSD).

3. Hasil dan Pembahasan

Aktivitas fagositosis sel makrofag

Gambar 1. memperlihatkan aktivitas fagositosis sel makrofag setiap kelompok. Aktivitas makrofag kelompok I adalah 89±1,41; kelompok II 73,25±1,71; kelompok III 71,0±1,41; kelompok IV 79,75 ± 0,96; kelompok V 88,0 + 0.82 dan kelompok VI 94,75 ± 1,26.

Hasil uji Tukey HSD seperti tercantum pada Tabel 1, menunjukkan bahwa kelompok kontrol akuades dan CMC tidak berbeda, masing-masing dosis EDKC memiliki aktivitas berbeda. Selain itu juga ditunjukkan bahwa aktivitas makrofag kelompok dosis 84 mg menyamai aktivitas kelompok kontrol positif (PHA). Makin tinggi dosis EDKC, makin tinggi aktivitas makrofagnya.



Gambar 1. Aktivitas fagositosis sel makrofag (I: PHA, II: CMC Na, III: Aquadest, IV. Dosis 42mg/20g, V: dosis 84g/20g, VI: dosis 168mg/20g)

Tabel 1. Uji Tukey HSD aktivitas makrofag seluruh kelompok

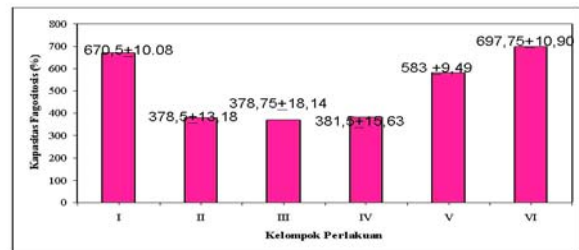
DOSIS	1	2	3	4
aquades	71.0000			
cmc	73.2500			
dosis 42 mg		79.7500		
dosis 84 mg			88.0000	
pha			89.0000	
dosis 168 mg				94.7500
Sig.	.190	1.000	.879	1.000

Kapasitas fagositosis sel fagosit pada cairan peritoneum mencit

Gambar 2 memperlihatkan kapasitas fagositosis sel makrofag setiap kelompok. Kapasitas makrofag kelompok I adalah 670,5±10,08; kelompok II 378,5±13,18; kelompok III 378,75±18,14; kelompok IV 381,5±13,63; kelompok V 583 ±9,49 dan kelompok VI 697,75±10,90.

Hasil uji Tukey HSD seperti tercantum pada Tabel 2, menunjukkan bahwa kelompok kontrol akuades, CMC dan kelompok dosis 42 mg tidak berbeda. Masing-masing dosis EDKC memiliki kapasitas berbeda. Selain itu juga ditunjukkan bahwa kapasitas makrofag kelompok dosis 168 mg menyamai kapasitas kelompok kontrol positif (PHA). Makin tinggi dosis EDKC, makin tinggi kapasitas makrofagnya.

Aktivitas makrofag paling rendah dijumpai pada kelompok kontrol akuades, diikuti oleh kelompok kontrol CMC. Aktivitas meningkat seiring dengan peningkatan dosis EDKC. Aktivitas tertinggi dicapai oleh dosis EDKC tertinggi dan kontrol positif PHA (Gambar 1). Peningkatan aktivitas makrofag seiring tingginya dosis, menunjukkan bahwa terdapat bahan aktif yang terkandung dalam EDKC yang berpotensi untuk meningkatkan aktifitas makrofag.



Gambar 2. Kapasitas fagositosis sel makrofag cairan peritoneum mencit (I: PHA, II: CMC Na, III: Aquadest, IV. dosis 42mg/20g, V: dosis 84g/20g, VI: dosis 168mg/20g)

Tabel 2. Uji Tukey HSD kapasitas makrofag seluruh kelompok

DOSIS	1	2	3
aquades	369.5000		
cmc	378.5000		
dosis 42 mg	381.5000		
dosis 84 mg		583.0000	
pha			670.5000
dosis 168 mg			697.7500
Sig.	.793	1.000	.085

Secara statistik bahkan dibuktikan bahwa pada dosis tertinggi dalam penelitian ini, memiliki aktivitas lebih tinggi dibanding PHA sekalipun. Dosis sedang bahkan menyamai kontrol positif PHA.

Telah diinformasikan sebelumnya, bahwa EDKC mengandung flavonoid yang cukup tinggi. Pada penelitian bahan alam lain yang mengandung flavonoid, seperti meniran (*Phyllanthus niruri* L.) memiliki kemampuan dalam memperbaiki sistem imun^{3,8,9}. Berarti, hasil penelitian ini sesuai dengan harapan, yakni hipotesis terbukti, dengan kata lain bahwa EDKC memiliki potensi bekerja sebagai imunostimulan. Flavonoid berpotensi bekerja terhadap limfokin yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis.

Hasil penelitian mengenai kapasitas makrofag, juga menunjukkan bahwa masing-masing dosis menunjukkan kapasitas fagositosis yang berbeda. Makin tinggi dosis pemberian EDKC, makin tinggi pula kapasitasnya. Dengan jumlah bakteri yang tetap dari dosis terendah hingga dosis tertinggi, hasil ini menunjukkan bahwa memang betul terjadi peningkatan kapasitas makrofag selain peningkatan aktivitas makrofag yang telah diuraikan di atas. Berarti pula bahwa makin tinggi dosis, makin banyak sel bakteri yang difagosit oleh satu sel makrofag.

Sama dengan yang terjadi pada pengukuran aktivitas, pada dosis tertinggi ditunjukkan memiliki kemampuan kapasitas makrofag yang diberi PHA. Hal ini menunjukkan bahwa, dosis yang disarankan untuk digunakan sebagai imunostimulator adalah dosis tertinggi.

4. Kesimpulan

EDKC berpengaruh terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag. Terlihat perbedaan yang bermakna antar kelompok dari dosis yang dipilih. Aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag meningkat sesuai dengan pemberian dosis EDKC. Dosis yang memberikan pengaruh terbesar adalah dosis tertinggi dari penelitian ini. Dosis yang disarankan untuk digunakan sebagai imunostimulator adalah dosis tertinggi. Pada dosis tertinggi dalam penelitian ini, memiliki aktivitas lebih tinggi dibanding PHA sekalipun.

Daftar Acuan

1. Tizard, I. *Pengantar Immunologi Veteriner*, Edisi 2, W.B., New York: Saunders Company; 1982. Hal. 18-32.
2. Bellanti, J.A. *Immunologi III*. Washington: Georgetown University School of Medicine; 1993. D.C. Hal. 18.
3. Cassia alata L. Diambil dari: http://ftp.ui.edu/bekas/V12/artikel/tg_tanaman_obat/d_epkes/buku/1-059.pdf. Diakses tanggal 21 Mei 2006.
4. Christine. *Penelitian Tanaman Obat di Beberapa Perguruan Tinggi di Indonesia*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2000. Hal 115.
5. Kenangan-kenangan dari Apoteker angkatan XXII. *Alam Sumber Kesehatan Manfaat dan Kegunaan*. Hal. 218-9.
6. Heyne, K. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid kedua. Jakarta: Diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan Jakarta; 1987. Hal 916-7.
7. Tjay, T.H., Rahardja, K., *Obat-Obat Penting*, Edisi V. Jakarta: P.T. Elex Media Komputindo; 2002. Hal. 722.
8. Sairam, M., Sharma, S.K., Ilavazhagan, G., K. Dvendra, and W. Selvamurthy. 1997. *Immunomodulatory Effects of NIM-76 a Volatile Fraction From Neem Oil*, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol : 55, Hal. 133-39.
9. Flavonoid imunomodulator. Diambil dari: <http://www.depkes.go.id/index.php?option=articles&task=viewarticlez&artid=391&itemid=>. Diakses 10 Februari 2007.
10. Robinovitch, M. *Professional and non-Professional Phagocytes an Introduction*. Trends In Cell Biology; 1995. Vol : 5, Hal. 85-87.
11. Atlas, R.M. *Phagocytosis In Microbiology Fundamentals and Application*, New York: Macmillan Company; 1984. Hal. 476-88.
12. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan; 2000, Hal. 1-11.
13. Harborne, J.B., *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Terbitan kedua, Penerbit ITB Bandung; 1987, Hal. 1-8.
14. Mentari, I.L., *Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis Sebagai Imunomodulator Terhadap aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Fagosit Peritoneum Mencit Yang Diinduksi Dengan SGB (Streptococcus Group B)* [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila. 2001. Hal 20.
15. Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., *Medical Microbiology, Mikrobiologi Kedokteran*, edisi 20. Alih bahasa: Nugroho, E., Maulany, R.F., C.V. EGC. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran; 1986. Hal. 211-12.
16. Hart, T., Shears, P., *Color Atlas of Medical Microbiology, Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran*, cetakan I. Jakarta: Alih bahasa: Pratama, F.E., Kumala, P., Penerbit Hipokrates; 1996.
17. *Staphylococcus aureus*. Diambil dari: fig.cox.miami.edu/~cmdlery/150/proceuc/staph.htm. Diakses tanggal 10 Juni 2006.