

Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag

Hana Ratnawati¹, Yudhi Handoko G.², Leonard H. Purba²

¹ Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, UK. Maranatha, Bandung.

² Mahasiswa anggota Student Research Centre, FK. UKM, Bandung.

Abstract

The immune system has an important role in human health. The innate immune-system defends the host against infection by phagocytes the antigen, which is the role of macrophage cell. Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lam.) had been empirically proved to increase body immune system. The aim of this study is to know the effect of Red Fruit toward the macrophage's phagocytotic activity.

This research was acted invitro on Swiss Webster mice's macrophage cell culture, which was exposed by Red Fruit extract (concentration 0,25ug/dl; 0,50ug/dl; 1,00ug/dl; 2,50ug/dl; 5,00 ug/dL) in 5', 10', 30', and 60'. The percentage of activated macrophages was counted, compared between treatment group and negative control group (aquadest). The data was processed by One Way Anova and Tukey HSD statistical methods.

The result shows that 10', 30' and 60' exposed of Red Fruit extract could increase Macrophage's activity significantly (p=0,000). The optimal dose of Red Fruit extract which could increase the activity of macrophage is 0,25 µg/dl. With 10', 30' and 60' exposed of Red Fruit could increase the phagocytotic activity of macrophages 76.15% ug/dl, 65.32% ug/dl, and 83.41% ug/dl.

It can be concluded that the exposurd of Red Fruit extract 10', 30' and 60' could increase macrophage's phagocytotic activity, with the optimal dose is 0,25 µg/dl.

Keywords : Red Fruit, Macrophage's Phagocytotic Activity

Pendahuluan

Akhir-akhir ini banyak diberitakan mengenai Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam) yang disebutkan dapat mengobati berbagai penyakit. Di Papua (tempat asal Buah Merah), terutama di wilayah Pegunungan Jayawijaya, masyarakatnya memanfaatkan Buah Merah sebagai sumber pangan sehari-hari dan mereka memiliki kondisi kesehatan yang lebih baik dibandingkan wilayah lainnya¹. Kondisi kesehatan seseorang dipengaruhi oleh sistem imun yang berfungsi melindungi tubuh terhadap unsur-unsur patogen. Respon imun non spesifik merupakan pertahanan pertama terhadap antigen yang masuk ke 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. Sel-sel yang berperan dalam memfagositosis antigen antara lain sel makrofag.

Pada penelitian ini akan diamati aktifitas fagositosis makrofag yang diambil dari peritoneum mencit. Bila jumlah sel makrofag yang aktif lebih banyak setelah dipapar oleh ekstrak Buah Merah berarti buah merah dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag, dengan kata lain buah merah

dapat meningkatkan sistem imun seluler.

Sistem imunitas

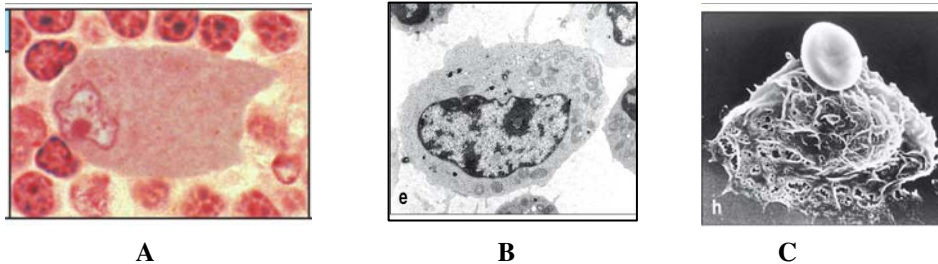
Imunitas non spesifik merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*) yang berfungsi memberikan respon dini terhadap patogen dan juga memegang peranan penting dalam menginduksi respon imun spesifik. Respon imun spesifik / didapat menggunakan berbagai mekanisme efektor sistem imun non-spesifik / bawaan untuk menyingkirkan patogen dan juga meningkatkan fungsi sistem imun bawaan. Jadi terdapat interaksi antara kedua sistem imun tersebut, menghasilkan suatu aktivitas biologik untuk melawan patogen / zat asing yang masuk ke dalam tubuh².

Sebagai pertahanan pertama terhadap masuknya antigen ke dalam tubuh, maka sistem imun non spesifik akan menghancurkan antigen melalui proses fagositosis. Cara pertahanan tubuh demikian disebut sebagai

imunitas seluler². Sel yang berperan dalam memfagositosis antigen antara lain sel makrofag, suatu sel fagositik mononuklear yang dapat ditemukan dalam jaringan submukosa serta pada tempat inflamasi³.

Proses Fagositosis oleh Sel Makrofag

Makrofag dibentuk di sumsum tulang dari sel induk mieloid. Sel ini berada dalam sirkulasi darah dalam bentuk monosit, kemudian akan meninggalkan sirkulasi, menjadi matang dan menetap di jaringan pengikat sebagai makrofag. Makrofag yang berada di dalam jaringan sering disebut sebagai sel *kupffer* pada *hepar*, sel debu pada *pulmo*, osteoklas pada tulang, dan lain-lain². Makrofag mempunyai masa hidup yang lebih lama daripada sel fagosit granulositik dan tetap dapat bekerja pada pH yang rendah³.



Gambar 1. Sel Makrofag dilihat dengan mikroskop cahaya (A), mikroskop elektron (B) dan *scanning electron microscop* (C)

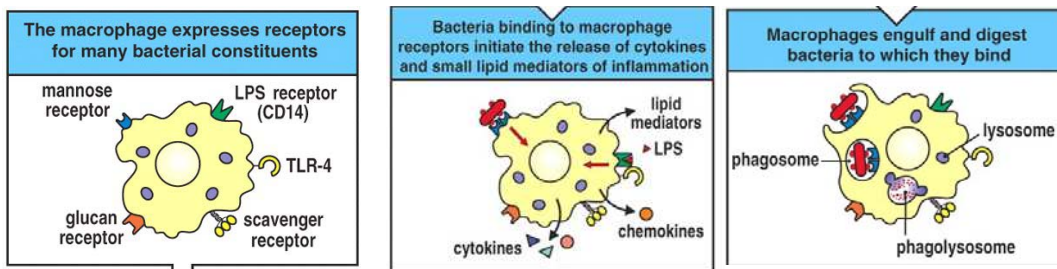
Makrofag dapat mengenali adanya patogen karena adanya reseptor permukaan yang dapat membedakan antara patogen dan sel *host*. Reseptor permukaan yang dapat ditemukan pada sel makrofag yaitu⁴:

- *scavenger receptors*, yang dapat mengikat *lipoteichoic acids* yang merupakan komponen dinding bakteri Gram-positif.
- *mannose receptors* dan *glucan receptors* yang dapat berikatan dengan komponen karbohidrat dari bakteri.
- CD14 yang dapat mengikat lipopolisakarida (LPS).
- *Toll-like receptors* (TLRs) yang dapat mengenali komponen-komponen yang terdapat pada mikroorganisme. TLRs juga merupakan *signalling receptors* yang berperan dalam menginisiasi respon imun spesifik.

Ligasi antara patogen dan reseptor-reseptor tersebut akan diikuti proses fagositosis patogen. Fagositosis adalah suatu proses aktif, yang dimulai dengan *engulf* patogen oleh sel makrofag, kemudian patogen dimasukkan ke dalam *phagosome* (*endocytic vacuole*), mengalami reaksi oksidasi-reduksi sehingga derajat keasamannya meningkat⁴.

Selain *phagosome*, di dalam makrofag juga terdapat *lysosome* yang berisi lebih dari 50 macam enzim yang berfungsi untuk mencerna zat-zat yang masuk ke dalamnya. Enzim yang paling khas didalam *lysosome* yaitu *acid phosphatase*. Makrofag yang teraktivasi mempunyai jumlah *lysosome* yang meningkat dan menghasilkan serta melepaskan interleukin-1 yang sangat berperan dalam proses inflamasi³. Selanjutnya makrofag akan mempresentasikan antigen kepada sel limfosit T, sebagai *Antigen Presenting Cells* dan ini merupakan awal respon imun spesifik⁵.

Aktivitas fagositosis makrofag merupakan suatu fenomena yang kompleks dan dipengaruhi oleh *macrophage activating factor* (MAF), IFN- γ dan IL-3. MAF akan merangsang transkripsi berbagai gen yang menyandi berbagai protein yang diperlukan untuk aktivasi makrofag². Jadi bila aktivitas fagositosis makrofag meningkat setelah dipapar dengan ekstrak Buah Merah berarti bahan uji mengandung zat yang dapat berperan sebagai *macrophage activating factor*, tetapi karena ini adalah suatu penelitian pendahuluan, jadi tidak diteliti mekanisme kerja dan bahan aktif dalam ekstrak Buah Merah tersebut.



Gambar 2. Reseptor-reseptor pada sel makrofag; bakteri terikat pada reseptor sel makrofag; *engulf* patogen oleh sel makrofag.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa Buah Merah mengandung suatu senyawa yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag, yang berarti juga dapat meningkatkan sistem imun seluler. Bila hal ini terbukti maka masyarakat dapat memanfaatkan Buah Merah sebagai tanaman obat yang berkhasiat meningkatkan sistem imunitas tubuh, khususnya imunitas seluler.

Bahan dan Metode Penelitian

Penelitian bersifat eksperimental laboratorium sungguhan, dengan pengujian pada kultur sel makrofag dari peritoneum mencit galur *Swiss webster*. Data yang diperoleh berupa persentase jumlah makrofag aktif dari 100 sel yang dihitung, kemudian data dianalisis secara statistik metode *one way Anova* dengan $\alpha=0,05$, dan dilanjutkan dengan analisis *Tukey HSD*.

Hewan yang digunakan sebagai obyek percobaan adalah mencit galur *Swiss-Webster*, jantan, beraktivitas normal, dan berumur 2-3 minggu.

Bahan uji yang digunakan adalah Buah Merah (*Pandanus conoideus* L.) kultivar merah panjang, yang didapat dari Dataran Tinggi Fak-fak, Irian Jaya. Bahan uji ini diekstrak secara murni dengan pelarut Etanol. Ekstrak yang didapat disimpan pada suhu 4° C dalam lemari es, dalam keadaan terbungkus kertas timah. Apabila percobaan akan dimulai, ekstrak disentrifugasi 3500 rpm selama 10 menit, sehingga didapatkan lapisan minyaknya pada lapisan paling atas. Lapisan minyak inilah yang diujikan.

Ekstrak Buah Merah tadi dipersiapkan menjadi 5 dosis berbeda, yaitu: 5µg/ml; 2,5µg/ml; 1µg/ml;

0,5µg/ml, dan 0,25µg/ml. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan medium RPMI komplit.

Cara Kerja

- Siapkan 10 ekor mencit, bius dengan kloroform, kemudian fiksasikan pada *dissecting set*. Bersihkan bagian abdomen mencit dengan alkohol 70%, buka kulit abdomen tanpa melukai peritoneum.
- Suntikkan 5 ml medium RPMI komplit intraperitoneal, biarkan 3 menit sambil sedikit ditekan dan digoyang-goyang peritoneumnya.
- Cairan peritoneum diaspirasi menggunakan spuit injeksi. Cairan aspirat yang didapat disentrifugasi pada 1200 rpm, 4° C selama 10 menit.
- Supernatan dibuang, tambahkan 3 ml medium RPMI pada pellet yang didapat.
- Siapkan 2 buah *wellplate* 24 dan ke dalam setiap sumuran letakkan *cover slips* dengan sisi kolagen menghadap ke atas. Setiap sumuran diisi dengan 500 µl medium RPMI yang sudah mengandung makrofag.
- Selanjutnya masukkan 250 µl ekstrak Buah Merah dengan konsentrasi yang berbeda ke dalam sumuran (kolom A, B, C, D, E dan kolom G, H, I, J, K), kecuali pada kolom F dan L tidak diberi ekstrak Buah Merah melainkan diisi aquadest sebagai kontrol negatif. Untuk setiap konsentrasi Buah Merah dibuat dalam 2 sumuran (duplo). Konsentrasi ekstrak Buah Merah sbb :

Kolom A dan G : 5 µg/ml.
Kolom B dan H : 2,5 µg/ml.
Kolom C dan I : 1 µg/ml.

Kolom D dan J : 0,5 µg/ml.
Kolom E dan K : 0,25 µg/ml.
Kolom F dan L : aquadest

A	B	C	D	E	F
A	B	C	D	E	F
A	B	C	D	E	F
A	B	C	D	E	F

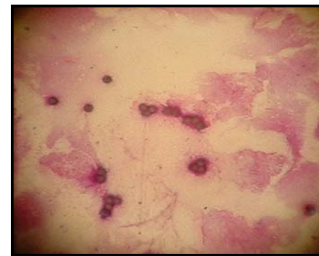
} lama demabaran 5 menit

} lama demabaran 10 menit

G	H	I	J	K	L
G	H	I	J	K	L
G	H	I	J	K	L
G	H	I	J	K	L

} lama nemanaran 30 menit

} lama demabaran 60 menit



Gambar 3. Sel makrofag tidak aktif (kiri) dan sel makrofag aktif memfagositosis partikel latex (kanan).

- Setelah dipapar Buah Merah dalam waktu tertentu (5', 10', 30', 60'), cuci 2 kali dengan RPMI, kemudian tambahkan suspensi latex (500.000 partikel/sumuran) dan diinkubasikan dalam inkubator CO₂ 5 %, 37° C selama 1 jam. Kemudian cuci dengan RPMI 5 kali dan fiksasi dengan Methanol pekat selama 5 menit.
- Selanjutnya warnai dengan giemsa selama 20 menit dan cuci dengan aquadest.
- Makrofag yang menempel pada *Cover slip* dapat dilihat dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40 kali. Hitung jumlah makrofag yang aktif (telah memfagositosis latex) per 100 sel

makrofag pada setiap cover slips pada beberapa lapang pandang.

Hasil dan Pembahasan

Makrofag yang diisolasi dan dikultur dalam *wellplate* 24, diberi ekstrak Buah Merah yang dibagi menjadi 5 dosis yang berbeda dan aquadest sebagai kontrol negatif. Pada gambar 3 dapat dilihat sel makrofag yang tidak aktif dan sel makrofag yang aktif memfagositosis partikel latex.

Berdasarkan penghitungan jumlah sel makrofag yang aktif per 100 sel maka didapatkan persentase makrofag aktif dari dua sumuran (duplo), dan dihitung rata-ratanya. Pada tabel 1 dapat dilihat data persentase sel makrofag yang aktif setelah dipapar

bahan uji dengan variasi dosis dan lama pemaparan.

Tabel 1. Persentase makrofag aktif setelah dipapar bahan uji selama waktu tertentu

Zat Uji	Kode	Persentase Makrofag Aktif			
		5 menit	10 menit	30 menit	60 menit
Aquadest / K(-)	1	7,26 %	2,38 %	2,89 %	3,73 %
	2	9,70 %	4,58 %	2,50 %	3,36 %
	Mean	8,48 %	3,48 %	2,69 %	3,54 %
B. Merah 0,25 ug/dL	1	9,61 %	77,96 %	65,28 %	81,90 %
	2	6,80 %	74,35 %	65,37 %	84,92 %
	Mean	8,20 %	76,15 %	65,32 %	83,41 %
B. Merah 0,50 ug/dL	1	8,21 %	54,54 %	55,69 %	62,72 %
	2	6,92 %	59,33 %	55,69 %	63,79 %
	Mean	7,56 %	56,93 %	55,69 %	63,25 %
B. Merah 1,00 ug/dL	1	11,76%	59,71 %	47,80 %	55,37 %
	2	7,75 %	60,28 %	48,00 %	52,40 %
	Mean	9,75 %	59,99 %	47,90 %	53,88 %
B. Merah 2,50 ug/dL	1	7,24 %	61,07 %	31,79 %	19,67 %
	2	6,87 %	54,90 %	31,79 %	19,73 %
	Mean	7,05 %	57,08 %	31,79 %	19,70 %
B. Merah 5,00 ug/dL	1	7,85 %	64,02 %	15,55 %	3,25 %
	2	6,36 %	61,15 %	15,67 %	3,73 %
	Mean	7,10 %	62,58 %	15,61 %	3,49 %

Tabel 2. Hasil Uji Anova Persentase Makrofag Aktif dengan Lama Pemaparan 5 Menit.

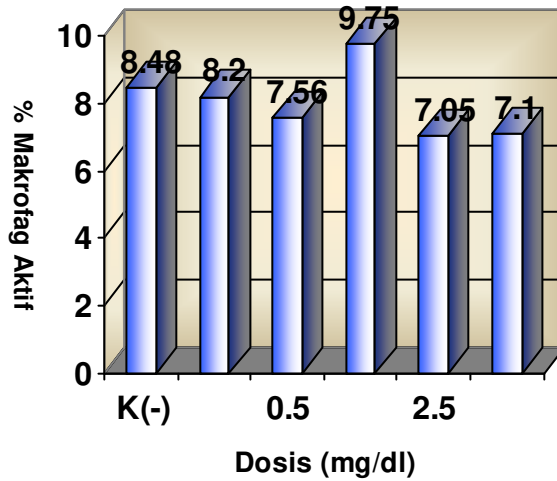
	Kelompok Perlakuan					
	K (-)	BM 1	BM 2	BM 3	BM 4	BM 5
Makrofag aktif	8,48	8,20	7,56	9,75	7,05	7,10
Standar deviasi	1,72	1,99	0,91	2,83	0,26	1,05
$F_{hitung} = 0,74$	$P = 0,621$					
$F_{0,05(5,6)} = 4,39$						

Keterangan :

BM 1 = Ekstrak Buah Merah dosis 0,25 µg/dl BM 4 = Ekstrak Buah Merah dosis 2,50 µg/dl

BM 2 = Ekstrak Buah Merah dosis 0,50 µg/dl BM 5 = Ekstrak Buah Merah dosis 5,00 µg/dl

BM 3 = Ekstrak Buah Merah dosis 1,00 µg/dl K (-) = Kontrol negatif (aquadest)



Gambar 4. Diagram perbandingan persentase makrofag aktif setelah pemaparan bahan uji selama 5 menit.

A. Pemaparan Bahan Uji Selama 5 Menit

Pada pemaparan bahan uji selama 5 menit, ternyata persentase makrofag aktif yang paling tinggi adalah pada dosis 1 $\mu\text{g}/\text{dl}$ yaitu 9,75 %, tetapi hasilnya hampir sama dengan kontrol negatif (8,48 %), bahkan pada dosis lainnya persentase makrofag aktif lebih rendah daripada kontrol negatif. Hal ini dapat disebabkan zat uji belum berpengaruh terhadap sel makrofag karena lama pemaparan sangat singkat. Hasil uji statistik dengan *Anova one way* dapat dilihat pada tabel 2.

Dari hasil uji Anova dengan uji F diperoleh $F_{\text{hitung}} < F_{0,05(5,6)}$ dengan $p > 0,05$ berarti antar kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan persentase makrofag aktif ($p=0,621$), maka bahan uji pada pemaparan selama 5 menit tidak meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag.

B. Pemaparan Bahan Uji Selama 10 Menit

Dari tabel 1 tampak pada pemaparan bahan uji selama 10 menit sudah nampak adanya perbedaan yang mencolok antara setiap kelompok yang diberi perlakuan dengan kelompok kontrol negatif. Hasil yang paling tinggi didapatkan pada dosis 0,25 $\mu\text{g}/\text{dl}$ yaitu 76,15 % dibandingkan kontrol negatif yang hanya 3,48 %. Hasil uji statistik dapat dilihat pada tabel 3.

Dari hasil uji Anova dengan uji F diperoleh $F_{\text{hitung}} > F_{0,05(5,6)}$ dengan $p < 0,05$ berarti antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan persentase makrofag aktif yang sangat signifikan ($p=0,000$), maka bahan uji pada pemaparan selama 10 menit dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Sedikitnya terdapat satu kelompok yang berbeda sangat signifikan, oleh karena itu uji

statistik akan dilanjutkan dengan *post hoc Tukey HSD* untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda signifikan. Hasil *post hoc test* dapat dilihat pada tabel 4.

Dari uji Post Hoc Test Metode Tukey didapatkan bahwa semua kelompok perlakuan yang diberi bahan uji menunjukkan menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan ($p < 0,01$) dibandingkan kelompok kontrol negatif. Hal ini berarti bahwa pemaparan bahan uji selama 10 menit efektif dalam meningkatkan persentase makrofag aktif. Kelompok perlakuan

dengan dosis Buah Merah 0,25 ug/dL paling berbeda signifikan dibanding dengan kelompok dosis Buah Merah lainnya. Antar kelompok dosis Buah Merah 0,50 ug/dL, 1,00 ug/dL, 2,50 ug/dL dan 5,00 ug/dL tidak berbeda bermakna, berarti mempunyai efek yang sama dalam meningkatkan aktivitas makrofag.

Pada gambar 5 dapat dilihat bahwa dosis Buah Merah 0,25 ug/dL mampu mengaktifkan fagositosis makrofag lebih baik (76,15 %), dibanding kelompok lainnya.

Tabel 3. Hasil Uji Anova Persentase Makrofag Aktif dengan Lama Pemaparan 10 Menit.

	Kelompok Perlakuan (n=2)					
	K (-)	BM 1	BM 2	BM 3	BM 4	BM 5
Makrofag aktif	3,48	76,16	56,94	60,00	57,99	62,58
Standar deviasi	1,55	2,55	3,39	0,40	4,36	2,03
$F_{hitung} = 173,97$	$P = 0,000$					
$F_{0,05(5,6)} = 4,39$						

Keterangan :

BM 1 = Ekstrak Buah Merah dosis 0,25 µg/dl BM 4 = Ekstrak Buah Merah dosis 2,50 ug/dl
 BM 2 = Ekstrak Buah Merah dosis 0,50 µg/dl BM 5 = Ekstrak Buah Merah dosis 5,00 µg/dl
 BM 3 = Ekstrak Buah Merah dosis 1,00 µg/dl K (-) = Kontrol negatif (aquadest)

Tabel 4. Hasil Uji Beda Rata-Rata Metode Tukey HSD terhadap Persentase Aktivitas Makrofag yang Dipapar bahan uji selama 10 menit.

	Persentase Makrofag Aktif					
	BM 1	BM 2	BM 3	BM 4	BM 5	K (-)
	76,16	56,94	60	57,99	62,58	3,48
BM 1	-	**	**	**	**	**
BM 2	**	-	NS	NS	NS	**
BM 3	**	NS	-	NS	NS	**
BM 4	**	NS	NS	-	NS	**
BM 5	**	NS	NS	NS	-	**
K (-)	**	**	**	**	**	-

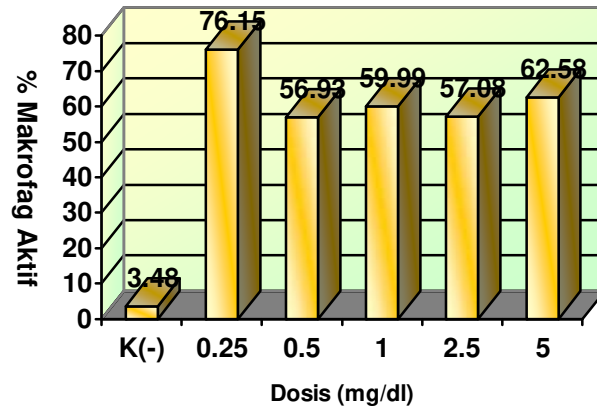
Keterangan :

BM 1 = Ekstrak Buah Merah dosis 0,25 µg/dl
 BM 2 = Ekstrak Buah Merah dosis 0,50 µg/dl

BM 5 = Ekstrak Buah Merah 5,00 ug/dl
 K(-) = Kontrol negatif (aquadest)

BM 3 = Ekstrak Buah Merah dosis 1,00 µg/dl
BM 4 = Ekstrak Buah Merah dosis 2,50 µg/dl

** = perbedaan sangat signifikan
NS = Non Signifikan



Gambar 5. Diagram perbandingan persentase makrofag aktif setelah pemaparan bahan uji selama 10 menit.

Tabel 5. Hasil Uji Anova Persentase Makrofag Aktif dengan Lama Pemaparan 30 Menit.

	Kelompok Perlakuan (n=2)					
	K (-)	BM 1	BM 2	BM 3	BM 4	BM 5
Makrofag aktif (%)	2,69	65,32	55,69	47,90	31,79	15,61
Standar deviasi	0,27	0,06	0,00	0,14	0,00	0,06
F _{hitung} = 65545,97 P = 0,000						
F _{0,05(5,6)} = 4,39						

Keterangan :

BM 1 = Ekstrak Buah Merah dosis 0,25 µg/dl BM 4 = Ekstrak Buah Merah dosis 2,50 µg/dl
BM 2 = Ekstrak Buah Merah dosis 0,50 µg/dl BM 5 = Ekstrak Buah Merah dosis 5,00 µg/dl
BM 3 = Ekstrak Buah Merah dosis 1,00 µg/dl K (-) = Kontrol negatif (aquadest)

C. Pemaparan Bahan Uji Selama 30 Menit

Sama seperti pada pemaparan bahan uji selama 10 menit, pada pemaparan bahan uji selama 30 menit persentase makrofag aktif paling tinggi juga didapatkan pada dosis 0,25 µg/dl yaitu 65,32 % dan pada dosis lainnya tetap didapatkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif (2,69 %).

Untuk melihat apakah bahan uji masih efektif dalam meningkatkan

aktivitas makrofag, maka dapat dilihat dari hasil uji statistik One Way Anova.

Dari hasil uji Anova dengan uji F diperoleh $F_{hitung} > F_{0,05(5,6)}$ dengan $p < 0,05$ berarti antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan persentase makrofag aktif yang sangat signifikan ($p=0,000$), maka bahan uji pada pemaparan selama 30 menit efektif dalam meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan dilakukan uji *post hoc*

test Tukey HSD, hasilnya dapat dilihat pada tabel 6.

Dari uji Post Hoc Test Metode Tukey didapatkan bahwa semua kelompok perlakuan yang diberi bahan uji menunjukkan menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan ($p < 0,01$) dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Hal ini berarti bahwa pemaparan bahan uji selama 30 menit efektif dalam meningkatkan fagositosis makrofag, dan setiap kelompok

perlakuan menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan satu dengan lainnya.

Pada gambar 5 dapat dilihat bahwa dosis Buah Merah 0,25 ug/dL mampu mengaktifkan fagositosis makrofag lebih baik, dibanding dengan kelompok lainnya, yaitu mencapai 65,32 %. Dari diagram ini juga dapat dilihat bahwa pada pemaparan bahan uji selama 30 menit, makin tinggi dosis Buah Merah, semakin rendah persentase makrofag aktif, jadi berbanding terbalik.

Tabel 6. Hasil Uji Beda Rata-Rata Metode Tukey HSD terhadap Persentase Aktivitas Makrofag yang Dipapar bahan uji selama 30 menit.

	Persentase Makrofag Aktif					
	BM 1	BM 2	BM 3	BM 4	BM 5	K (-)
	76,16	56,94	60	57,99	62,58	3,48
BM 1	-	**	**	**	**	**
BM 2	**	-	**	**	**	**
BM 3	**	**	-	**	**	**
BM 4	**	**	**	-	**	**
BM 5	**	**	**	**	-	**
K (-)	**	**	**	**	**	-

Keterangan :

BM 1 = Ekstrak Buah Merah dosis 0,25 µg/dl

BM 2 = Ekstrak Buah Merah dosis 0,50 µg/dl

BM 3 = Ekstrak Buah Merah dosis 1,00 µg/dl

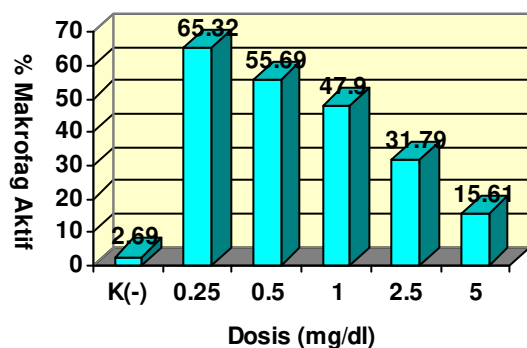
BM 4 = Ekstrak Buah Merah dosis 2,50 µg/dl

BM 5 = Ekstrak Buah Merah 5,00 ug/dl

K(-) = Kontrol negatif (aquadest)

** = perbedaan sangat signifikan

NS = Non Signifikan



Gambar 6. Diagram perbandingan persentase makrofag aktif setelah Pemaparan

bahan uji selama 30 menit.

Tabel 7. Hasil Uji Anova Persentase Makrofag Aktif dengan Lama Paparan 60 Menit.

	Kelompok Perlakuan (n=2)					
	K (-)	BM 1	BM 2	BM 3	BM 4	BM 5
Makrofag aktif	3,54	83,41	63,25	53,88	19,70	3,49
Standar deviasi	0,26	2,13	0,76	2,10	0,04	0,34
$F_{hitung} = 1397,56$	$P = 0,000$					
$F_{0,05(5,6)} = 4,39$						

Keterangan :

BM 1 = Ekstrak Buah Merah dosis 0,25 µg/dl BM 4 = Ekstrak Buah Merah dosis 2,50 µg/dl
 BM 2 = Ekstrak Buah Merah dosis 0,50 µg/dl BM 5 = Ekstrak Buah Merah dosis 5,00 µg/dl
 BM 3 = Ekstrak Buah Merah dosis 1,00 µg/dl K (-) = Kontrol negatif (aquadest)

d. Paparan Bahan Uji Selama 60 Menit

Pada paparan bahan uji selama 60 menit persentase makrofag aktif paling tinggi juga didapatkan pada dosis 0,25 µg/dl yaitu 65,32 % dan pada dosis lainnya tetap didapatkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif yang hanya 2,69 %. Untuk melihat apakah bahan uji masih efektif dalam meningkatkan aktivitas makrofag, maka dapat dilihat dari hasil uji statistik *One Way Anova*.

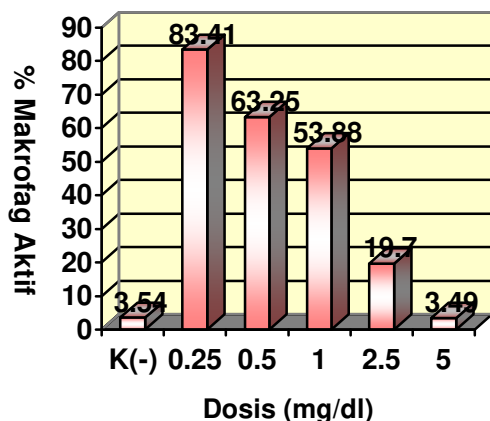
Hasil uji Anova dengan uji F diperoleh $F_{hitung} > F_{0,05(5,6)}$ dengan $p < 0,05$ berarti antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan persentase makrofag aktif yang sangat signifikan ($p=0,000$), maka bahan uji pada paparan selama 60 menit efektif dalam meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan dilakukan uji *post hoc test Tukey HSD*, hasilnya dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil Uji Beda Rata-Rata Metode Tukey HSD terhadap Persentase Aktivitas Makrofag yang Dipapar bahan uji selama 60 menit.

	Persentase Makrofag Aktif					
	BM 1	BM 2	BM 3	BM 4	BM 5	K (-)
	76,16	56,94	60	57,99	62,58	3,48
BM 1	-	**	**	**	**	**
BM 2	**	-	**	**	**	**
BM 3	**	**	-	**	**	**
BM 4	**	**	**	-	**	**
BM 5	**	**	**	**	-	NS
K (-)	**	**	**	**	NS	-

Keterangan :

BM 1 = Ekstrak Buah Merah dosis 0,25 µg/dl BM 5 = Ekstrak Buah Merah 5,00 µg/dl
 BM 2 = Ekstrak Buah Merah dosis 0,50 µg/dl K(-) = Kontrol negatif (aquadest)
 BM 3 = Ekstrak Buah Merah dosis 1,00 µg/dl ** = perbedaan sangat signifikan
 BM 4 = Ekstrak Buah Merah dosis 2,50 µg/dl NS = Non Signifikan



Gambar 7. Perbandingan persentase makrofag yang aktif setelah pemaparan bahan uji selama 60 menit.

Dari uji *Post Hoc Test Metode Tukey* didapatkan bahwa pada kelompok perlakuan yang diberi bahan uji dosis 0, 25 ug/dL, 0,50 ug/dL, 1,00 ug/dL, dan 2,50 ug/dL menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan ($p < 0,01$) dibandingkan kelompok kontrol negatif, tetapi pada dosis 5,00 ug/dL hasilnya tidak signifikan ($p = 1,00$) dibandingkan kelompok kontrol negatif. Hal ini berarti bahwa pemaparan bahan uji selama 60 menit efektif dalam meningkatkan fagositosis makrofag, kecuali pada kelompok bahan uji dengan dosis 5,00 ug/dL.

Pada gambar 7 dapat dilihat bahwa dosis Buah Merah 0,25 ug/dL memberikan hasil yang paling baik (83,41 %) dibandingkan dosis lainnya. Seperti pada pemaparan bahan uji selama 30 menit, pada pemaparan 60 menit juga didapatkan bahwa semakin tinggi dosis bahan uji, semakin rendah persentase makrofag aktif, bahkan pada dosis 5 ug/dL hasilnya lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif.

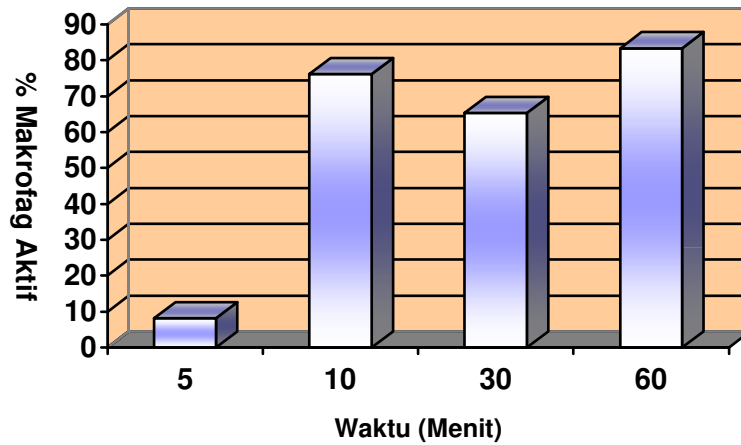
Hal ini berarti pada dosis 5 ug/dL dan lama pemaparan 60 menit, ekstrak Buah Merah tidak efektif meningkatkan fagositosis makrofag, sebaliknya menyebabkan makrofag menjadi tidak aktif atau kemungkinan bisa berefek toksik terhadap sel makrofag.

Ternyata pada setiap variabel waktu pemaparan (10 menit, 30 menit dan 60 menit), dosis 0,25 ug/dL selalu menunjukkan efek yang paling maksimal dibandingkan dengan kelompok dosis lain yang diujikan. Bila dilihat dari diagram batang (Gb. 8), hasil yang paling maksimal didapatkan pada dosis 0,25 ug/dL dengan lama pemaparan selama 60 menit, yaitu 83,41%.

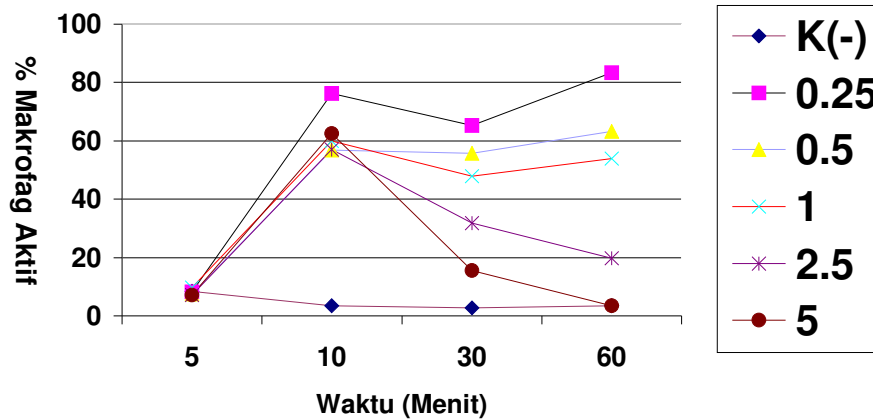
Dari gambar 9 dapat dilihat bahwa dosis Ekstrak Buah Merah yang paling optimal dalam meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag yaitu 0,25 ug/dL, dan semakin besar dosis tidak memberikan hasil yang semakin baik. Pada lama pemaparan 10 menit semua dosis menunjukkan hasil diatas 50 %,

tetapi bila lama pemaparan diperpanjang menjadi 30 dan 60 menit, hasilnya semakin menurun kecuali pada dosis 0,25 ug/dL dan 0,50 ug/dL masih menunjukkan hasil > 50 %. Dosis ekstrak Buah Merah > 1,00 ug/dl dengan lama pemaparan lebih dari 10 menit malahan me-nyebabkan penurunan aktivitas fagositosis makrofag. Jadi semakin tinggi dosis ekstrak Buah Merah dan semakin lama

pemaparan tidak berarti akan memberikan hasil yang lebih baik, malahan pada dosis 5,00 ug/dL dan lama pemaparan 60 menit memberikan hasil yang sama dengan kontrol negatif atau tidak berefek meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Hal ini dapat disebabkan efek toksik dari bahan uji terhadap sel makrofag pada dosis tinggi dan waktu pemaparan yang lama.



Gambar 8. Diagram perbandingan persentase makrofag aktif setelah pemaparan Buah Merah 0,25 ug/ dl dalam beberapa lama waktu pemaparan.



Gambar 9. Diagram perbandingan persentase makrofag aktif setelah pemaparan Buah Merah berbagai konsentrasi dengan waktu pemaparan berbeda.

Simpulan dan Saran

Ekstrak Buah Merah dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag, setelah dipaparkan selama 10, 30 dan 60 menit. Dosis Ekstrak Buah Merah yang paling optimal dalam meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag adalah 0,25 ug/dl. Dosis ekstrak Buah Merah > 1,00 ug/dl dengan lama pemaparan lebih dari 10 menit menyebabkan penurunan aktivitas fagositosis makrofag.

Disarankan, perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui zat aktif yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag dan diteliti juga mekanisme kerjanya. Juga perlu dilakukan penelitian *in vivo* pengaruh pemberian Buah Merah dalam meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag dan pengaruhnya pada sistem imun.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ibu Tri Yulianti

sebagai staf Analis LPPT Universitas Gajah Mada, yang telah membantu teknis pengerjaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. I Made Budi, Fendy R. Paimin.. *Buah Merah*. Edisi I. 2004. Jakarta: Penebar Swadaya.
2. Siti Boedina Kresno. *Immunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi 4. 2001. Jakarta: FK UI. h.33-4, 130-1
3. Nairn Roderick. *Imunologi*. Dalam: Jawetz, Melnick, Adelberg's. ed. *Mikrobiologi Kedokteran*. 2001. Jakarta: Salemba Medika. p.167-174
4. Janeway C.A. Jr., Travers P., Walport M., Shlomchik M.J. *Immunobiology: the immune system in health and disease 6th ed*. 2005. New York: Garland Science Publishing.
5. Abbas Abul, Lichtman Andrew, Robert Jordan. *Cellular and Molecular Immunology*. 2nd ed. 1994. United States of America: Saunders Company. p.21-2

