

EFEK IMUNOMODULATOR EKSTRAK DAUN ASAM JAWA (*TAMARINDUS INDICA*) TERHADAP AKTIVITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG DAN JUMLAH SEL DARAH PUTIH PADA MENCIT BALB/C

Immunomodulatory Effects Of Tamarindus Indica Leaves Extract On Macrophage Phagocytotic Activity And White Blood Cell Count In Balb/C Mice

Yusuf Eko Nugroho¹, Ikhwan Dwi Wahyu Nugroho², Tatang Tajudin³

¹ Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis

^{2,3} Program Studi Sarjana Farmasi

e-mail¹yusufekonugroho47@gmail.com

Abstrak

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. Jika mikroorganisme memiliki molekul permukaan yang dikenali oleh fagosit (makrofag dan neutrofil) sebagai benda asing, akan diserang atau dihancurkan secara langsung. Asam jawa (*Tamarindus indica*) merupakan salah satu tanaman herbal yang dapat digunakan sebagai obat dimana tanaman ini tersebar luas di Indonesia. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kemampuan makrofag dalam fagositosis dan jumlah sel darah putih untuk mengetahui efektivitas daun asam jawa sebagai imunomodulator. Penelitian ini menggunakan tikus yang diinjeksi ekstrak secara intraoral yang kemudian disuntik *Staphylococcus aureus*. diambil darah di intraperitoneal dan diamati. dosis 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB memiliki rendemen 69,0%, 72,3%, dan 77,3. Semakin besar dosis, semakin besar aktivitas makrofag.

Kata Kunci: Daun Asam jawa, Makrofag, Imunomodulator

Abstract

The body's defense system, also known as the immune system, is a system that is responsible for protecting the body from incoming foreign objects so that body functions are not disrupted. If a microorganism has surface molecules that are recognized by phagocytes (macrophages and neutrophils) as foreign, it will be attacked or destroyed directly. Tamarind (*Tamarindus indica*) is one of the herbal plants that can be used as medicine, where this plant is widespread in Indonesia. The aim of this research was to determine the ability of macrophages in phagocytosis and the number of white blood cells to determine the effectiveness of tamarind leaves as an immunomodulator. This research used mice that were injected with the extract intraorally and then injected with *Staphylococcus aureus*. Blood was taken intraperitoneally and observed. doses of 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, and 400 mg/kgBB had yields of 69.0%, 72.3%, and 77.3. The greater the dose, the greater the macrophage activity.

Keyword : Tamarind leaf, Macrophage, Immunomodulator

1. PENDAHULUAN

Angka kejadian penyakit infeksi mengalami peningkatan dalam beberapa tahun terakhir, dan merupakan salah satu penyebab tingginya angka kematian di beberapa negara berkembang termasuk Indonesia. Terlebih infeksi yang disebabkan oleh virus dan bakteri [1]. Infeksi ini akan menyebabkan kerugian fisik dan finansial selain produktifitas secara nasional. Penyebaran sumber infeksi ini dapat melalui berbagai perantara atau yang dikenal sebagai vektor, yakni udara, binatang, benda- benda, dan juga manusia sendiri [2].

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh flora normal pada manusia seperti bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan patogen gram-positif yang bersifat invasif dan mampu menyebabkan berbagai penyakit pada hewan dan manusia [3]. Infeksi bakteri yang bisa terjadi dengan lepuh dan erosi bisa disebabkan antara lain oleh *Staphylococcus aureus* [4].

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 [5]. Sistem imun dibagi atas dua jenis, yaitu sistem imun alamiah atau innate atau non spesifik dan sistem imun didapat atau adaptive atau spesifik. imun nonspesifik (makrofag dan neutrofil), yang beraksi langsung terhadap patogen tanpa diinduksi. Jika mikroorganisme memiliki molekul permukaan yang dikenali oleh fagosit (makrofag dan neutrofil) sebagai benda asing, akan diserang atau dihancurkan secara langsung [6]. 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 [5].

Bahan yang dapat memodulasi sistem imun tubuh dikenal sebagai imunomodulator [1]. Fungsi imunomodulator adalah memperbaiki sistem imun dengan cara stimulasi (imunomodulator) atau menekan/menormalkan reaksi imun yang abnormal (imunosupresan) yang bisa didapatkan dari tanaman herbal [6].

Asam jawa (*Tamarindus indica*) merupakan salah satu tanaman herbal yang dapat digunakan sebagai obat dimana tanaman ini tersebar luas di Indonesia [7]. Sebuah polisakarida dan dimurnikan dari *Tamarindus indica*, menunjukkan aktivitas imunomodulator seperti peningkatan fagositik, penghambatan proliferasi sel dan penghambatan migrasi leukosit [8].

2. METODE PENELITIAN

A. Metode dan Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian murni yang dilakukan di laboratorium Hematologi STIKES Al-Irsyad Al-Islamiyyah Cilacap dengan menggunakan ekstrak daun asam jawa dan mencit sebagai hewan coba.

B. Subyek penelitian

Objek penelitian berupa mencit galur BALB/c. Bakteri *S.aureus* didapatkan dari Lab. Mikrobiologi STIKES Al-Irsyad Al-Islamiyyah Cilacap. Ekstrak daun asam jawa dilakukan dengan ekstraksi bertingkat menggunakan ethanol 96% di lab kimia farmasi STIKES Al-Irsyad Al-Islamiyyah Cilacap

Pengambilan sampel dilakukan dengan langkah sebagai berikut:

1) Menentukan Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah hewan coba dikelompokkan secara acak dengan dibagi lima kelompok dan masing kelompok terdiri atas tiga ekor mencit. Semua pemberian dilakukan peroral setiap hari selama satu minggu. Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan sehat galur BALB/c dengan berat 20-30g.

a. Variabel dan definisi Operasional

Variabel dalam penelitian ini adalah ekstrak daun asam jawa dan kapasitas makrofag dalam fagositosis.

b. Instrumen Penelitian

Intrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian laboratorium.

c. Prosedur Penelitian

1) Tahap Pembuatan ekstrak

Daun asam jawa yang diperoleh dicuci dengan air agar bersih dari kotoran yang melekat, kemudian daun dijemur hingga kering dan diserbukkan hingga halus dengan blender. Selanjutnya serbuk daun disokhletasi dengan eter, kemudian serbuk daun disiapkan untuk dimaserasi dan diinfusa.

Direndam 25 g serbuk daun asam jawa dalam 100 mL akuades di dalam bejana I, bejana II dan bejana III pada suhu kamar, direndam selama 3 x 24 jam dengan diaduk secara konstan.

Kemudian larutan yang ada pada bejana I disaring dengan kain kassa steril. dimasukkan pada bejana II. Biarkan larutan menyatu didiamkan selama 1 jam dengan diaduk secara konstan. Kemudian larutan yang ada pada bejana II disaring dengan kain kassa steril dimasukkan pada bejana III, didiamkan selama 1 jam dengan diaduk secara konstan agar larutan menyatu. Selanjutnya larutan dari bejana III disaring dengan kain kassa steril dimasukkan ke tempat penampung. Larutan ekstrak yang didapatkan di tempat penampung kemudian dipekatkan dengan cara ditangas diatas penangas air dengan suhu rendah dengan diberi pendingin balik untuk mendapatkan ekstrak kental.

2) Persiapan hewan coba

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 percobaan. Hewan uji dikelompokkan menjadi 6 kelompok dimana setiap kelompok terdiri dari 3 hewan uji.

3) Pemberian bahan uji

Kelompok hewan uji terdiri dari kelompok perlakuan (dosis 200 mg/kg BB, dosis 300 mg/kg BB, dosis 400 mg/kg BB), kelompok kontrol positif (Imboost®) 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.

4) Persiapan bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan *Staphylococcus aureus* (SA) yang ditanam pada media agar nutrisi miring dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35- 37° C. Bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah diinkubasi selama 24 jam, disuspensikan dalam NaCl fisiologis 0,9%. Kekeruhan bakteri diukur sesuai dengan standar Mc Farlan 0,5.

5) Uji Fagositosis

Pada hari kedelapan setiap mencit diinfeksi dengan 0,5 mL suspensi bakteri SA dan secara intraperitoneal, dibiarkan selama satu jam. Mencit dianestesi 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 spuit 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) [5].

6) Menghitung Aktivitas Fagositosis dan sel darah putih

Aktivitas imunomodulator ditentukan dengan menghitung aktivitas fagositosis sel makrofag dan sel darah putih peritonium mencit. Nilai aktivitas fagositosis (SPA) adalah persentase sel makrofag yang aktif melakukan proses fagositosis di antara 100 sel makrofag [5].

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

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

a) Perlakuan hewan coba

Penelitian dilakukan di laboratorium Patologi Klinik STIKES Al-Irsyad Al-Islamiyyah Cilacap. Menggunakan sampel mencit sejumlah 18 ekor yang dibagi kedalam 4 kelompok perlakuan dan 2 kelompok control dengan dosis dosis 200 mg/kg BB, dosis 300 mg/kg BB, dosis 400 mg/kg BB. Mencit yang sudah dikelompokkan kemudian di aklimatisasi selama 7 hari. Tujuan dari aklimatisasi adalah untuk menyesuaikan hewan coba terhadap lingkungan baru. Selama masa aklimatisasi, mencit diberikan makanan berupa pellet dan terus dipantau kesehatannya. Mencit disimpan dalam kandang di ruangan ber AC agar tidak mudah stress



Gambar 1. Mencit dalam proses aklimatisasi

b) Pembuatan Ekstrak daun asam jawa

Daun asam jawa diperoleh di daerah Sampang, Kabupaten Cilacap sebanyak 2 kilogram daun basah. Selanjutnya daun dikeringkan dengan oven pada suhu 100°C selama 10 menit.

Selanjutnya daun kering diblender hingga halus untuk selanjutnya dilakukan proses ekstraksi.



Gambar 2. Daun asam jawa

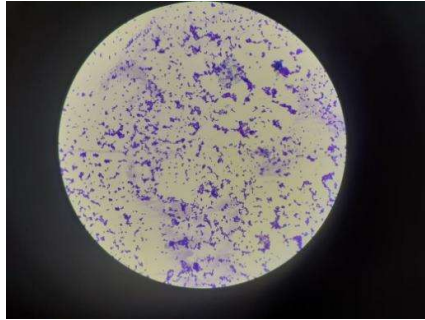
c) Persiapan bakteri uji

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang dapat dibuktikan dengan sertifikat keaslian. Bakteri diambil dari ampul dikultur pada media BHI (*Brain Heart Infusion*) selama 24 jam dengan suhu 37oC. Selanjutnya dilakukan pemindahbiakan bakteri pada media *Enrichment BAP (Blood Plate Agar)*.



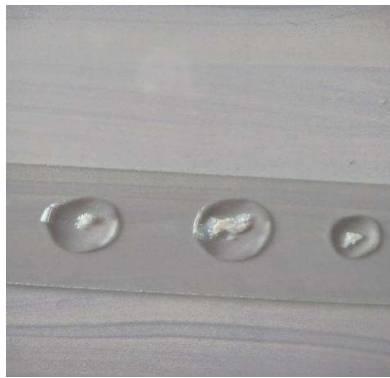
Gambar 3. Koloni S.aureus pada media BAP

Pada media diamati bentuk koloni dan diambil 1 mata ose koloni untuk dilakukan pengecatan gram dan uji katalase. Hasil uji menunjukkan warna koloni putih kekuningan dengan susunan bulat bergerombol dilihat dari mikroskop.



Gambar 4. Hasil cat gram

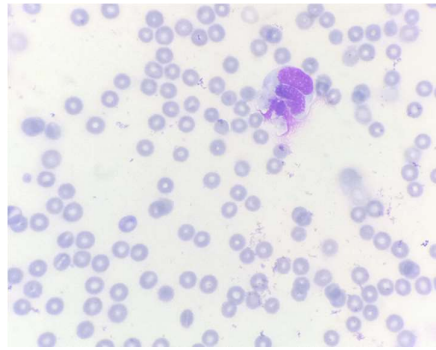
Hasil katalase menunjukkan adanya buih yang menandakan positif.



Gambar 5. Hasil Uji katalase

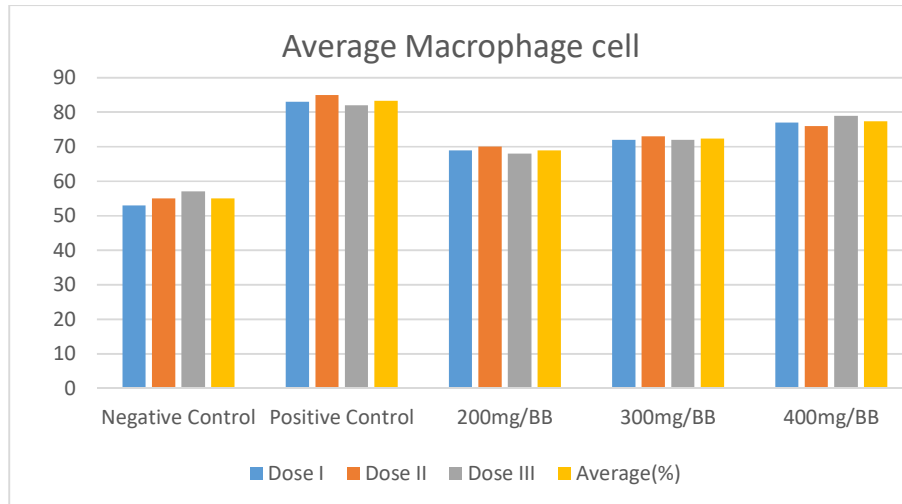
d) Pengujian aktifitas makrofag

Pada hari kedelapan masing-masing mencit diinfeksi 0,5 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* secara intraperitoneal dibiarkan selama satu jam. Mencit dibius dengan eter kemudian dibedah bagian perutnya menggunakan gunting bedah dan pinset steril. Jika ditemukan sedikit cairan peritoneum di perut, ditambahkan 1-2 ml larutan Phosphate buffered saline (PBS) steril (PBS) pH 7,8 sebanyak 1-2 ml, kemudian diambil cairan peritoneum dengan 1 cc jarum suntik. Cairan peritoneum diwarnai pada kaca objek dan difiksasi dengan metanol selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan pewarnaan Giemsa 10%, didiamkan selama 20 menit, dibilas dengan air mengalir. Setelah preparat kering, dilihat di bawah mikroskop menggunakan minyak imersi dengan perbesaran (10x-100x).



Gambar 6. Sel makrofag

Apusan sel yang sudah diwarnai kemudian diamati dibawah mikroskop dan dihitung menggunakan *cell counter*. Nilai aktivitas fagositosis makrofag peritoneum pada mencit dapat dihitung dari makrofag yang aktif memfagositosis di antara 100 jumlah sel yang dinyatakan dalam persen. Grafik peningkatan aktivitas fagositosis dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik rata-rata sel makrofag dengan control negative NA CMC

Tabel di atas menunjukkan bahwa dosis 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB memiliki rendemen 69,0%, 72,3%, dan 77,3. Semakin besar dosis, semakin besar aktivitas makrofag

Peningkatan aktivitas makrofag ditandai dengan bentuk dan ukuran makrofag yang bertambah besar dengan ekstensi pseudopoda yang sangat bervariasi. Fagosom muncul membran yang menjadi lebih berliku-liku, lisosom menjadi lebih banyak, aparatus Golgi membesar dan retikulum endoplasma kasar berkembang [5]

Hasil uji skrining fitokimia daun asam jawa mengandung senyawa flavonoid. diproduksi oleh sel T sehingga akan merangsang sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis. Flavonoid memiliki kemampuan meningkatkan sistem peningkatan aktivasi sel efektor seperti limfosit, makrofag yang memproduksi dan melepaskan sitokin, interleukin IL-1; IL-6; IL-12; tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) [5]

4. KESIMPULAN

Pemberian dosis 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB memiliki rendemen 69,0%, 72,3%, dan 77,3. Semakin besar dosis, semakin besar aktivitas makrofag. Ekstrak daun asam jawa mempunyai kemampuan sebagai imunomodulator dalam meningkatkan jumlah makrofag. Hal ini menjadikan sua

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada LPPM universitas Al-Irsyad Cilacap atas fasilitas yang diberikan, terimakasih kepada Laboratorium Prodi D4 TLM UNAIC.

DAFTAR PUSTAKA

1. I G A Kencana Wulan and Indropo Agusni, "Penggunaan Imunomodulator Untuk Berbagai Infeksi Virus Pada Kulit (Immunomodulators for a Variety of Viral infections of the Skin)," *Berk. Ilmu Kesehat. Kulit dan Kelamin - Period. Dermatology Venereol.*, vol. 27, pp. 63–69, 2015.
2. D. Triana, P. Kedokteran, and U. Bengkulu, "Frekuensi β -Lactamase Hasil Staphylococcus aureus Secara Iodometri Di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas," vol. 10, no. 2, pp. 992–995, 2014.
3. Z. Mufidah, S. Rahayu, L. F. Hewan, J. Biologi, and U. Brawijaya, "Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Buah Mengkudu pada Mencit yang Diinfeksi Staphylococcus aureus," *J. Vet.*, vol. 14, no. 4, pp. 501–510, 2013.
4. D. Rosalina, S. Martodihardjo, and M. Y. Listiawan, "Staphylococcus aureus sebagai Penyebab Tersering Infeksi Sekunder pada Semua Erosi Kulit Dermatosis Vesikobulosa (Staphylococcus aureus as the Most Common Cause of Secondary Infection in All Skin Lesions of Vesicobullous Dermatosis)," *Berk. Ilmu Kesehat. Kulit*

Kelamin, vol. 22, no. 318, 2010.

5. Wahyuni, M. H. Malaka, A. Fristiohady, M. I. Yusuf, and Sahidin, "Potensi Imunomodulator Ekstrak Etanol Buah Kecombrang(*Etlingera Elatior* (Jack) R.M.Smith) Terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag Mencit Jantan Galur Balb/C," *Pharmakon*, vol. 6, no. 3, pp. 350–355, 2017, doi: 10.35799/pha.6.2017.17211.
6. M. L. Siregar, "Peran Imunomodulator Pada Penyakit Infeksi," *Ilmu Penyakit Dalam Fak. Kedokt. Univ. Syiah Kuala RSUD dr. Zainoel Abidin Banda Aceh*, pp. 73–85, 2015.
7. D. Puspodewi, S. Darmawati, and E. T. Maharani, "DAYA HAMBAT DAUN ASAM JAWA (*Tamarindus indica*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Salmonella typhi* PENYEBAB DEMAM TIFOID," *2nd Univ. Res. Coloquium 2015*, no. 2009, 2015.
8. S. Zohrameena, M. Mujahid, P. Bagga, and M. Khalid, "Medicinal uses & pharmacological activity of *Tamarindus indica* Medicinal uses & pharmacological activity of *Tamarindus indica*," *World J. Pharm. Sci.*, no. January, 2017.