

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper Crocatum*) DOSIS BERTINGKAT TERHADAP AKTIVITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG MENCIT BALB/C YANG DIINFEKSI *Salmonella typhimurium*

Citra Hutami Saraswati¹, Ratna Damma Purnawati², Neni Susilaningsih²

¹ Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang - Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang : Sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan salah satu tanaman obat yang multi khasiat. Daun *Piper crocatum* memiliki kandungan diantaranya tanin, saponin, alkaloid dan flavonoid. Senyawa alkaloid dan flavonoid meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Sel Th1 yang teraktivasi akan mempengaruhi SMAF (*Spesific Makrofag Activating Factor*) yang dapat mengaktifkan makrofag. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh ekstrak sirih merah terhadap daya tahan mencit yang terinfeksi *Salmonella typhimurium* dengan menilai kemampuan fagositosis makrofag.

Tujuan : Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirih merah dosis 10, 30, 100 mg/hari/mencit terhadap aktivitas fagositosis makrofag mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

Metode : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan desain *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol yang terdiri dari K1 yang hanya diberikan ekstrak daun *Piper crocatum* 10 mg/hari/mencit dan K2 yang hanya diberikan injeksi intraperitoneal *Salmonella typhimurium* serta kelompok perlakuan (P1,P2,P3) yang diberikan injeksi intraperitoneal *Salmonella typhimurium* dan ekstrak daun *Piper crocatum* dosis berturut-turut 10,30,100 mg/hari/mencit.

Hasil : Rerata indeks fagositosis makrofag masing-masing kelompok : K1 = 0,22; K2 = 0,14; P1 = 0,23; P2 = 0,32; P3 = 0,66. Indeks fagositosis makrofag antara kelompok kontrol dengan perlakuan dan antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan, yaitu antara K1-K2, K2-P1, K2-P2, K2-P3, P1-P2, P1-P3, dan P2-P3.

Simpulan : Pemberian ekstrak daun sirih merah dosis bertingkat berpengaruh terhadap peningkatan aktivitas fagositosis makrofag.

Kata kunci : *Piper crocatum*, fagositosis makrofag, *Salmonella typhimurium*.

ABSTRACT

THE EFFECT OF PIPER CROCATUM LEAF EXTRACT WITH GRADUAL DOSE ONTO MACROPHAGE PHAGOCYTOSIS ACTIVITIES OF *Salmonella typhimurium* INFECTED BALB/C MICE

Background : *Piper crocatum* is a multi efficacy herbal medicine. Its leaf consists of tannins, saponins, alkaloids and flavonoids. Alkaloids and flavonoids improve the activity of IL-2 and lymphocyte proliferation. The activated Th1 cells influence on SMAF (Specific Macrophage Activating Factor) that enables macrophage activation. This research purpose is to evaluate the effect of piper crocatum extract into the immune system of *Salmonella Thyphimurium* infected mice by considering the ability of macrophage phagocytosis.

Aim : To understand the effect of Piper crocatum leaf extract doses 10, 30, 100 mg/day/mice onto macrophage phagocytosis activities of Salmonella typhimurium infected BALB/C mice.

Methods : This study was an experimental laboratory design of Post Test Only Control Group Design. The research utilized 5 groups, control group consists of C1 that only given the extract of Piper Crocatum leaf of 10 mg/day/mouse and C2 only given intraperitoneal of Salmonella typhimurium injection while other group (P1,P2,P3) given the intraperitoneal of Salmonella typhimurium injection as well as the extract of Piper Crocatum leaf with dose of 10, 30, 100 mg/day/mouse.

Result : Average Indexes of Macrophage Phagocytosis on each group are: C1 = 0,22; C2 = 0,14; P1 = 0,23; P2 = 0,32; P3 = 0,66. There were significant differences among C groups and P groups. Those are C1-C2, C2-P1, C2-P2, C2-P3, P1-P2, P1-P3, and P2-P3.

Conclusion : The gradual increase dose of piper crocatum leaf extract influence on the improved macrophage phagocytosis activity.

Keywords : Piper crocatum, macrophage phagocytosis, Salmonella typhimurium.

PENDAHULUAN

Piper crocatum atau sirih merah merupakan salah satu tanaman tradisional yang telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional berbagai penyakit. Sirih merah dipercaya dapat menyembuhkan penyakit diabetes, hipertensi, kanker payudara, peradangan, hepatitis, asam urat, maag, luka dan lain-lain.¹

Studi *in vitro* menunjukkan bahwa fraksi hasil kromatografi cair vakum dari ekstrak methanol daun sirih merah mampu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag.² Penelitian tentang aktivitas imunomodulator daun sirih merah secara *in vivo* menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana daun sirih merah mampu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag akan tetapi tidak berpengaruh terhadap proliferasi limfosit.³

Sirih merah mengandung senyawa fitokimia yakni alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid. Alkaloid merupakan senyawa fitokimia yang paling banyak di produksi sirih merah.⁴ Mekanisme flavonoid dan alkaloid sebagai imunomodulator adalah dengan meningkatkan aktivitas IL-2 (*interleukin 2*) dan proliferasi limfosit. Sel Th1 (*T helper 1*) yang teraktivasi akan mempengaruhi SMAF (*Spesific Makrofag Activating Factor*) seperti sitokin IFN- γ (*interferon gamma*) yang dapat mengaktifkan makrofag. Makrofag yang teraktivasi akan menghasilkan senyawa salah satunya nitrit oksida yang berguna membunuh bakteri^{5,6}

Infeksi dalam tubuh manusia dapat disebabkan oleh bakteri, virus atau jamur. Respon imun hewan uji dapat diinduksi dengan infeksi bakteri. *Salmonella typhimurium* adalah bakteri intraseluler fakultatif. Bakteri ini dapat menginduksi respon imun seluler yang dilakukan oleh makrofag yang teraktivasi oleh sitokin IFN- γ dengan proses *T-cell mediated*

immunity.⁷ *Salmonella* mempunyai faktor virulensi utama yaitu berupa lipopolisakarida (LPS) yang dapat menstimulasi respon imun inang.⁸

Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan pengaruh pemberian ekstrak daun sirih merah dosis bertingkat terhadap aktivitas fagositosis makrofag mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan ilmu pengetahuan untuk penelitian yang terkait dengan sirih merah sebagai imunomodulator.

METODE

Jenis penelitian ini adalah *True Experimental* dengan rancangan *Post test Only Control Group Design* yang menggunakan hewan coba sebagai subjek penelitian. Tahapan dan proses penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Secara keseluruhan penelitian ini dilaksanakan dari bulan April sampai dengan Mei 2016.

Sampel penelitian ini adalah mencit Balb/c yang diperoleh dari Unit Hewan Coba Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Kriteria inklusi: mencit jantan Balb/c, umur 8-12 minggu, berat badan 20-25 gram dan sehat. Kriteria ekskusi: Selama diinfeksi dan perlakuan mencit tampak sakit (gerakan tidak aktif) dan mati selama adaptasi atau perlakuan.

Sampel hanya mengkonsumsi pakan dan minum secara *ad libitum* saat fase adaptasi selama 7 hari. Sampel selanjutnya dibagi secara acak ke dalam lima kelompok yaitu: kelompok kontrol 1 atau K1 (hanya diberikan ekstrak daun sirih merah dosis 10mg/hari/mencit selama 14 hari); kelompok kontrol 2 atau K2 (hanya diinjeksi *Salmonella typhimurium* 10^5 CFU intraperitoneal pada hari ke-10); kelompok perlakuan 1 atau P1 (diberikan ekstrak daun sirih merah dosis 10mg/hari/mencit selama 14 hari dan diinjeksi *Salmonella typhimurium* 10^5 CFU intraperitoneal pada hari ke-10); kelompok perlakuan 2 atau P2 (diberikan ekstrak daun sirih merah dosis 30mg/hari/mencit selama 14 hari dan diinjeksi *Salmonella typhimurium* 10^5 CFU intraperitoneal pada hari ke-10); dan kelompok perlakuan 3 atau P3 (diberikan ekstrak daun sirih merah dosis 100mg/hari/mencit selama 14 hari dan diinjeksi *Salmonella typhimurium* 10^5 CFU intraperitoneal pada hari ke-10).

Penelitian ini menggunakan lima ekor sampel untuk setiap kelompoknya dan secara keseluruhan berjumlah 25 ekor. Perlakuan terhadap hewan coba selama 14 hari. Setelah

perlakuan selesai pada hari ke-15 mencit dianesthesia dengan ether selanjutnya mencit diterminasi dengan dislokasi cervical mencit. Kemudian masing-masing mencit dilakukan isolasi makrofag dari rongga peritoneumnya dengan metode Ding (1994) dan lewis (1995). Selanjutnya dilakukan pemeriksaan aktivitas fagositosis makrofag dengan Latex Beads.

Analisis data primer yang didapat akan dilihat sebaran distribusi datanya melalui uji *Shapiro-Wilk* dan dilihat juga homogenitas datanya melalui *levene's test*. Apabila data berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan mekukan uji *One-way ANOVA* guna menganalisis perbedaan antar kelompok, lalu bila terdapat perbedaan yang bermakna akan dilanjutkan dengan uji *Post hoc LSD*.

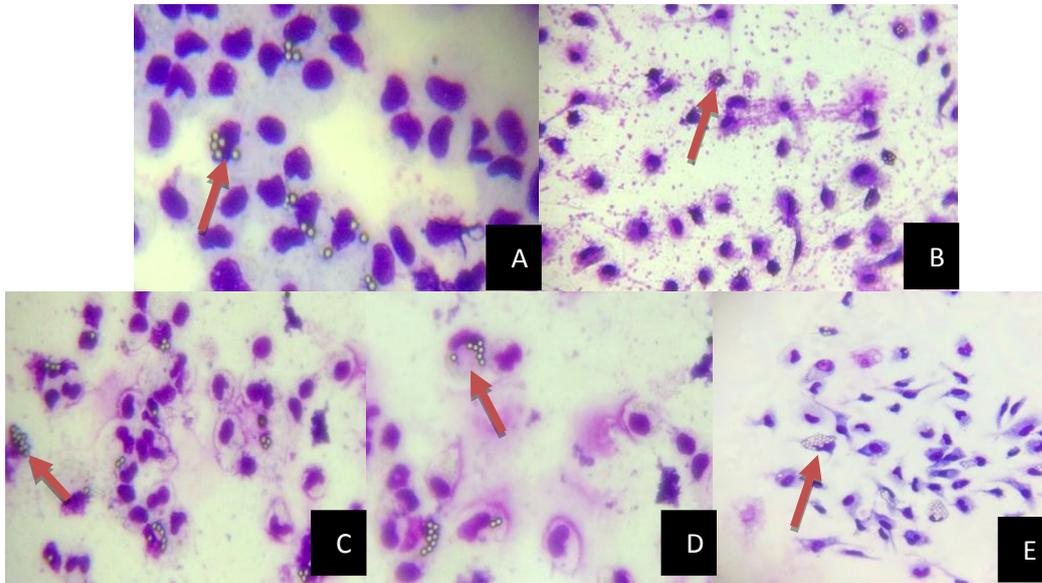
HASIL

Hasil pembacaan indeks fagositosis makrofag adalah rerata pembacaan oleh dua orang pembaca. Uji Kappa dilakukan untuk menilai kesesuaian antara 2 pengamatan yang berbeda dengan tujuan untuk menghindari subyektifitas pada kedua pembaca. Hasil uji Kappa untuk perhitungan indeks fagositosis makrofag didapat nilai 0,998 (sangat baik), artinya tidak ada perbedaan hasil pembacaan indeks fagositosis makrofag dari kedua pembaca

Tabel 1. Data deskriptif pengamatan indeks fagositosis makrofag

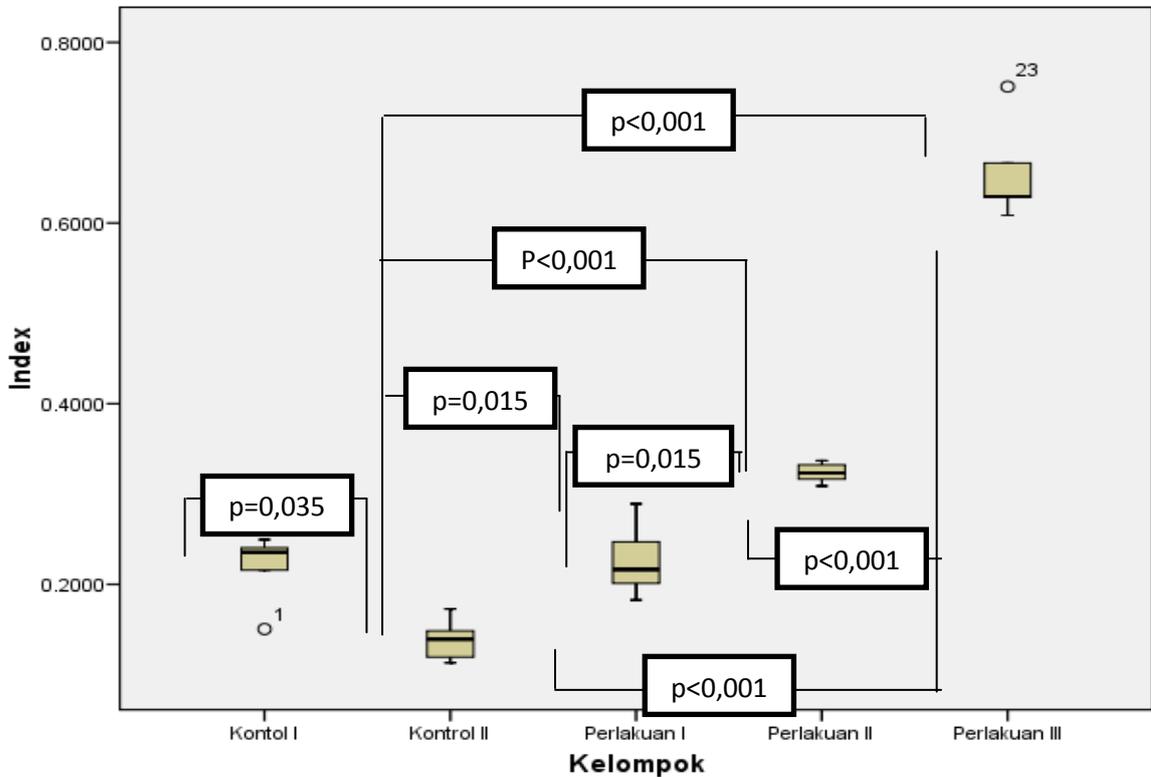
Kelompok	Mean	Standar Deviasi
K1	0,22	0,04
K2	0,14	0,02
P1	0,23	0,04
P2	0,32	0,01
P3	0,66	0,06

Berdasarkan tabel 1 di atas menunjukkan hasil rerata indeks fagositosis makrofag kelompok kontrol 1 ($mean=0,22$) lebih tinggi dibanding kelompok kontrol 2 ($mean=0,14$). Jumlah indeks fagositosis makrofag tertinggi pada kelompok perlakuan yaitu kelompok P3 dengan nilai $mean$ 0,66 sedangkan yang paling sedikit pada kelompok P1 dengan nilai $mean$ 0,23.



Gambar 1. Gambaran Mikroskopis Fagositosis Makrofag dengan Latex

Keterangan : Kelompok kontrol I (A); kelompok kontrol II (B); Kelompok perlakuan I (C); kelompok perlakuan II (D); kelompok perlakuan III (E); Panah merah menunjukan makrofag aktif yang memakan partikel latex.



Gambar 2. Grafik boxplot

Pada uji normalitas *Saphiro-Wilk* didapatkan sebaran data normal. Pada uji homogenitas varian dengan menggunakan *Levene Test* didapatkan nilai $p = 0,17$ yang berarti varian datanya homogen ($p > 0,05$).

Uji *One-way ANOVA* didapatkan nilai $p = 0,00$. Analisis data dilanjutkan dengan melakukan uji *Post hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antar kelompok. Hasil dinyatakan signifikan bila $p < 0,05$.

Berdasarkan gambar 2, indeks fagositosis makrofag kelompok kontrol 1 lebih tinggi daripada kelompok kontrol 2 dengan nilai p yang signifikan ($p = 0,035$). Indeks fagositosis makrofag antara kelompok kontrol 2 lebih rendah daripada seluruh kelompok perlakuan dengan nilai p yang signifikan ($p \leq 0,01$). Sedangkan indeks fagositosis makrofag antar kelompok perlakuan mengalami peningkatan ($P1 < P2 < P3$) dengan nilai p yang signifikan juga yaitu $p < 0,01$.

PEMBAHASAN

Data hasil penelitian antara kelompok kontrol 1 dengan kontrol 2 didapatkan perbedaan yang signifikan. Pada kelompok kontrol 1 yang hanya diberi ekstrak daun sirih merah meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag mencit Balb/c lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol 2 yang diinjeksi oleh bakteri *Salmonella typhimurium*. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak sirih merah lebih meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag dibanding dengan injeksi *Salmonella typhimurium*.

Data hasil penelitian antara kelompok kontrol 2 (K2) dengan perlakuan P1, perlakuan P2, dan perlakuan P3 didapatkan perbedaan yang signifikan. Selain itu pada kelompok K2, P1, P2 dan P3 menunjukkan peningkatan aktivitas fagositosis makrofag sesuai dengan peningkatan dosis yaitu $K2 < P1 < P2 < P3$. Data tersebut menunjukkan bahwa penambahan ekstrak sirih merah dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Hal ini sejalan dengan hipotesis penelitian yang menyatakan bahwa ekstrak daun sirih merah baik dosis 10, 30, atau 100 mg/hari/mencit dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

Dosis yang diberikan pada kelompok perlakuan mencit Balb/c yaitu 10, 30 dan 100 mg/hari/mencit mampu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Pemberian ekstrak daun sirih merah dengan dosis 100 mg/hari/mencit efektif untuk meningkatkan aktivitas fagositosis

makrofag dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 dan 2. Dari data tersebut menunjukkan bahwa aktivitas fagositosis makrofag meningkat seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak sirih merah. Hal ini sejalan dengan hipotesis penelitian yaitu terdapat perbedaan aktivitas fagositosis makrofag mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* antar kelompok perlakuan dengan masing-masing dosis.

Keseluruhan hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yustina Sri Hartini, dkk 2014 mengenai Efek Imunomodulator Dua Senyawa Neolignan Hasil Isolasi dari Ekstrak methanol daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*). Penelitian tersebut menggunakan ekstrak methanol sirih merah yang terlebih dahulu dilakukan isolasi untuk diambil dua senyawa neolignan. Ekstrak tersebut diberikan selama 14 hari sebelum diinfeksi *Listeria monocytogenes* dan injeksi *Listeria monocytogenes* dilakukan pada hari ke-15 dan hari ke-25. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil yang sama dengan penelitian ini yaitu ekstrak daun sirih merah mampu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag.³

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pemberian ekstrak daun sirih merah per oral dengan dosis bertingkat (10, 30, 100 mg/hari/mencit) selama 14 hari terbukti dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag mencit Balb/c lebih tinggi secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok K2. Aktivitas fagositosis makrofag meningkat seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak sirih merah.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dosis yang lebih bervariasi, rentang waktu pemberian ekstrak dan infeksi bakteri yang berbeda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan Jurnal Karya Tulis Ilmiah ini. Penulis juga berterima kasih kepada dr. Akhmad Ismail, M.Si.Med selaku ketua penguji, dr. Agung Aji Prasetyo, Sp.BA, M.Si.Med selaku penguji, serta keluarga dan teman-teman yang senantiasa memberikan doa dan dukungan sehingga penulisan hasil karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yulianti E, Rahayu T, Mercuriani IS. Potensi Ekstrak Sirih Merah (*Piper crocatum* ruiz & pav.) Sebagai Antikanke. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pemerintah Provinsi DIY*. 2010;II(2):34.
2. Hartini YSRI, Wahyuono S, Widyarini S. Uji Aktivitas Fagositosis Makrofag Fraksi-fraksi dari Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Secara In Vitro. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2013;11(2):108-115.
3. Hartini YS, Wahyuono S, Widyarini S. In vivo Immunomodulatory Effect and Histopathological Features of Mouse Liver and Kidney Treated with Neolignans Isolated from Red Betel (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Leaf. 2014;13(October):1609-1614.
4. Manoi F. Sirih merah sebagai tanaman obat multifungsi. *Warta Puslitbangbun*. 2007;13(2).
5. Abbas AK, Lichtman AHH, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2011.
6. Baratawidjaja KG, Rengganis I. *Imunologi Dasar*. 10th ed. Jakarta: Badan Penerbit FK UI; 2012.
7. Staf Pengajar Fakultas Kedokteran UI. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Bina Rupa Aksara; 2010.
8. Jawetz, Melnick, Adelberg. *Mikrobiologi Kedokteran*. 25th ed. Jakarta: EGC; 2013.