

Pengaruh Tempe terhadap Kemampuan Fagositosis Makrofag

Studi Eksperimental pada Mencit Jantan Strain Balb/c

The Effect of Tempeh on the Ability of Macrophage Phagocytosis An experimental study in male Balb/c mice

Noven Afiyata¹, Hadi Sarosa^{2*}, Titiek Sumarawati³

ABSTRACT

Background: Consuming tempeh regularly increases the levels of isoflavones in the our body influencing the $IFN\gamma$ and macrophage activating factor (MAF) that lead to the in increase in the ability of macrophage phagocytosis. Macrophage phagocytosis gives an illustration of the macrophages ability as the first line of phagocytic cells to digest foreign particles. This study aims at finding out the influence of tempeh on the ability of macrophage phagocytosis.

Design and Methods: In an experimental study using post test only control group design, 15 mice Balb/c were divided into 3 groups of 5 mice each. Gp1: 0.5 gr of tempeh juice, Gp2: 1 mg tablet imboost in 1 cc of water (positive control), Gp3: 1 cc of 1 times (negative control). Treatment was given daily for 12 days. On day 13, Phagocytic ability of macrophages were examined using latex beads method. Data were analyzed using one Kruskal Wallis test followed by Independent T-Test.

Results: The phagocytic ability for the three groups were $760,6 \pm 109,898$; $244,2 \pm 70,159$; $9,6 \pm 2,839$ respectively. Independent t- test resulted in the significance difference ($p = 0,008$) between treated groups and control groups, both positive and negative ones ($p < 0,05$).

Conclusion: There is a difference in phagocytic ability between treatment and control groups (*Sains Medika*, 3(1):54-62).

Key words: macrophage, phagocytosis ability, tempeh

ABSTRAK

Latar belakang: Konsumsi tempe secara teratur dapat meningkatkan kadar isoflavon dalam tubuh yang mampu mempengaruhi $IFN\gamma$ dan *Macrophage Activating Factor (MAF)* sehingga menyebabkan peningkatan kemampuan fagositosis makrofag. Fagositosis makrofag memberi gambaran mengenai kemampuan makrofag sebagai sel fagosit lini pertama untuk mencerna partikel asing. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh tempe terhadap kemampuan fagositosis makrofag.

Metode: Jenis penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* menggunakan 15 ekor mencit strain Balb/c yang dilakukan *random sampling* dan dibagi menjadi 3 kelompok, terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok perlakuan: 0,5 gram jus tempe/ hari, kelompok kontrol positif : 1 mg *imboost tablet* dalam 1 cc air/ hari, kelompok kontrol negatif : pemberian 1 cc/ hari. Perlakuan dilakukan selama 12 hari. Pemeriksaan kemampuan fagosit makrofag dilakukan pada hari ke-13 dengan *latex beads method* dan data yang diperoleh di uji dengan Uji *Kruskal Wallis* dilanjutkan dengan *T-Test Independent*.

Hasil: Kemampuan fagosit makrofag pada kelompok perlakuan sebesar $760,6 \pm 109,898$; kelompok kontrol positif $244,2 \pm 70,159$ kelompok kontrol negatif $9,6 \pm 2,839$. Hasil uji *T-Test Independent* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, baik positif maupun negative ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Terdapat perbedaan nyata kemampuan fagosit antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (*Sains Medika*, 3(1):54-62).

Kata kunci: makrofag, kemampuan fagositosis, tempe

1 Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA)

2 Bagian Ilmu Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA)

3 Bagian Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA)

* Email: idahasoras@yahoo.com

PENDAHULUAN

Makrofag merupakan salah satu mononuklear fagosit yang berfungsi sebagai pertahanan terdepan dalam menghadapi serangan mikroorganisme (Karnen, 2001). Obat imunomodulator yang sering digunakan adalah obat yang mengandung *echinacea*. *Echinacea* bekerja meningkatkan fagositosis makrofag dan produksi mediator kimia (Sullivan and Jennifer, 2008). Namun, *Echinacea* tidak boleh digunakan dalam jangka panjang yaitu sekitar delapan minggu karena dapat menyebabkan penurunan sistem imun (Bauer *et al.*, 1998). Peningkatan aktivitas makrofag dapat pula dipengaruhi oleh isoflavon.

Tempe yang dikonsumsi dalam jumlah adekuat dapat meningkatkan kadar isoflavon tubuh. Tempe mengandung rantai asam amino penyokong imun tubuh yang disebut sebagai peptid. Selain itu, isoflavon bersifat mengurangi radikal bebas sehingga dapat menurunkan molekul perusak sel tubuh dan penuaan dini (Russel, 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh tempe terhadap kemampuan fagositosis makrofag pada mencit jantan strain Balb/c. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pengaruh tempe terhadap kemampuan fagositosis makrofag dan digunakan sebagai kajian untuk penelitian selanjutnya mengenai hubungan tempe dengan fagosit makrofag.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Tempe diperoleh dari Pasar Tlogosari, Semarang.

Dosis pemberian tempe

1 gram protein tempe didapatkan sekitar 3 mg isoflavon, sedangkan kebutuhan isoflavone yang dibutuhkan manusia dalam sehari adalah 100 mg, sehingga dalam satu hari manusia harus mengkonsumsi 135 gram tempe. Penentuan dosis berdasarkan dosis untuk manusia dengan berat badan 70 kg dikonversikan kepada mencit dengan berat badan 20 g menggunakan tabel konversi Laurence-Bacharach dengan faktor konversi 0,0026. Jika berat badan mencit yang digunakan adalah 30-35 g maka konversinya

menjadi 0,004. Jika dikonversikan dalam mencit maka dosis tempe untuk mencit : dosis manusia x konversi (135 gram x 0,004 = 0,5 gram).

Dosis pemberian Imboost tablet

Mencit yang dipilih sebagai kontrol diberikan Imboost tablet dengan dosis konversi menggunakan sonde. Penentuan dosis berdasarkan dosis untuk manusia dengan berat badan 70 kg dikonversikan kepada mencit dengan berat badan 20 g menggunakan tabel konversi Laurence-Bacharach dengan faktor konversi 0,0026. Jika berat badan mencit yang digunakan adalah 30-35 g maka konversinya menjadi 0,004. Dosis Imboost tablet = dosis manusia x nilai konversi = 250 mg x 0,004 = 1 mg.

Perlakuan sampel.

Masing-masing mencit dibagi menjadi 3 kelompok. Dalam 1 kelompok terdiri dari 5 mencit yang di beri perlakuan berbeda. Kelompok perlakuan mendapat perlakuan 0,5 gram jus tempe. Diberikan melalui sonde dengan dosis 1 kali sehari selama 12 hari. Serta 20 gram pakan standar. Kelompok kontrol positif mendapat perlakuan 1 mg imboost tablet yang telah diencerkan kemudian diberikan dengan menggunakan sonde dengan dosis 1 kali sehari selama 12 hari. Serta 20 gram pakan standar. Kelompok kontrol negatif mendapat perlakuan aquadest dengan menggunakan sonde selama 12 hari serta diberikan pakan standar 20 gram. Dilakukan pengamatan selama 12 hari.

Isolasi makrofag

Mencit diterminasi dengan dislokasi cervical atau inhalasi dengan sodium Phenobarbital, dibaringkan terlentang dan seluruh permukaan ventral disiram alkohol 70%. Irisan kecil dibuat pada kulit dengan gunting pada medial abdomen. Robek kulit dengan 2 pinset ke arah kepala dan ekor mencit sehingga kulit terkelupas dan tampak peritoneum. Basahi peritoneum dengan etanol 70% untuk menyingkirkan bulu yang rontok. Peritoneal diinjeksi dengan 2-3 ml CMF-HBSS. Dengan ujung jarum menghadap ke atas atau ventral, peritoneum dipijat pelan-pelan. Injeksikan 7-8 ml CMF-HBSS. Sedot kembali cairan dalam rongga peritoneum sampai habis bila masih ada sisa cairan diisap dengan pipet Pasteur steril. Cairan dimasukkan dalam tabung berlapis silikon.

Cairan disentrifus 800 kali pada suhu 200 C selama 5 menit. Bila cairan terkontaminasi darah cuci sel tersebut 2 kali dengan CMF-HBSS. Makrofag dipurifikasi dengan menempelkan sel peritoneal pada permukaan plastik selama 2-4 jam suhu 370 C lalu tuang CMF-HBSS pelan-pelan untuk menghindari sedimen pellet sel adheren ikut tertuang. Sel yang digunakan adalah sel adheren. Menambahkan medium komplit RPMI 1640 mengandung Penisilin 50 unit/ml, Sterptomisin 50mg/ml, Glutamin 100ml dan 10 RBS. Menghitung sel dengan hemacitometer setelah dilarutkan dalam 3% asam asetat untuk melisiskan sel darah merah. Kultur dalam sel medium komplit dengan kepadatan 5×10^5 sel/ml selama 48 jam dalam CO₂ inhibitor suhu 370 C.

Uji daya fagositosis makrofag dengan latex beads method

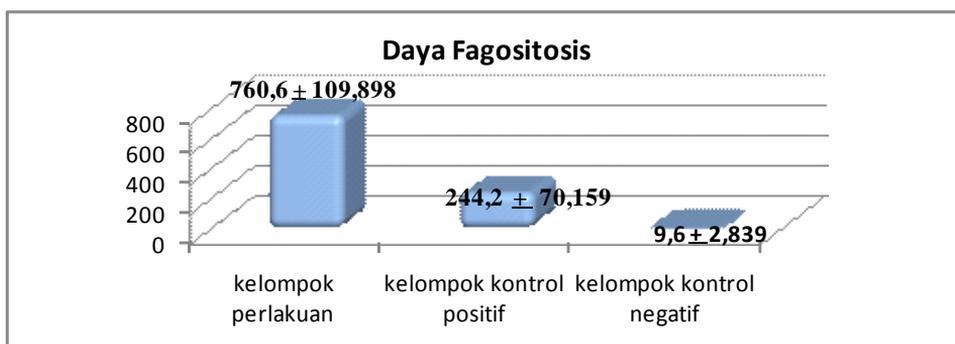
Suspensi fagosit yang telah dihitung dikultur pada mikroplate 24 sumuran yang telah diberi coverslip bulat, setiap sumuran 200ml (5×10^5 sel), kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ dengan suhu 370 C selama 30 menit. Setelah itu ditambahkan medium komplit yang berisikan RPMI dan larutan PBS sebanyak 1 ml/sumuran lalu diinkubasi 2 jam. Sel kemudian dicuci dengan larutan RPMI sebanyak 2 kali, kemudian ditambahkan medium komplit 1 ml/sumuran, diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam sel dicuci dengan larutan RPMI kembali sebanyak 2 kali. Latex beads disuspensikan sehingga mendapat konsentrasi $2,5 \times 10^7$ /ml. Suspensi latex ditambah 200 μ l/sumuran, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 60 menit pada suhu 370 C. Setelah diinkubasi dicuci dengan larutan PBS sebanyak 3 kali untuk menghilangkan partikel yang tidak difagosit. Pada suhu ruangan dilakukan pengeringan lalu difiksasi dengan methanol absolute. Setelah kering coverslip dipulas dengan Giemsa 20% selama 30 menit. Coverslip dicuci dengan aquadest lalu diangkat dari sumuran kultur dan keringkan pada suhu ruangan. Setelah kering objek gelas diamati, dimana jumlah sel yang memfagosit partikel latex dihitung dari 100 sel fagosit yang diperiksa dengan mikroskop cahaya.

Data pengukuran kemampuan fagositosis diuji normalitas menggunakan *uji Saphiro-Wilk* dan homogenitas variannya menggunakan *Levene Test*. Hasil kedua uji ini menunjukkan data berdistribusi normal dan varian tidak homogen, selanjutnya

dianalisa menggunakan *uji Kruskal Wallis*. Perbedaan dua kelompok diuji dengan *T Test Independent*.

HASIL PENELITIAN

Rerata kemampuan fagositosis makrofag pada masing – masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan terdapat perbedaan kemampuan fagositosis paling tidak antara 2 kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Hasil uji *T-Test Independent* menunjukkan terdapat perbedaan kemampuan fagositosis makrofag pada kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol baik kontrol positif maupun negatif ($p < 0,05$).



Gambar 1. Diagram rerata kemampuan fagositosis pada masing – masing kelompok perlakuan

PEMBAHASAN

Kelompok perlakuan yang diberikan jus tempe 0,5 gram memiliki rerata kemampuan fagositosis lebih tinggi dari kelompok kontrol positif dan negatif. Hal ini membuktikan bahwa pengonsumsi tempe 0,5 gram/hari selama 12 hari dapat meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag.

Tempe merupakan makanan hasil fermentasi biji kedelai yang memiliki kandungan gizi yang lebih mudah dicerna, diserap dan dimanfaatkan tubuh dibandingkan dengan yang ada dalam kedelai. Tempe mengandung beberapa hal yang menguntungkan dibandingkan kedelai, seperti kadar padatan terlarut, nitrogen terlarut, asam amino bebas, asam lemak bebas, nilai cerna, nilai efisiensi protein serta skor protein yang lebih tinggi (Astawan, 2003). Tempe mengandung beberapa zat gizi seperti

protein, lemak, karbohidrat, vitamin dan mineral serta beberapa senyawa aktif. Zink dan senyawa aktif seperti isoflavonoid, genistein, daidzein, fitosterol, saponin, asam fitat dan inhibitor protease merupakan zat aktif yang diduga mempengaruhi kemampuan fagositosis makrofag (Koswara, 2006).

Tempe dapat meningkatkan fagositosis makrofag dengan dua mekanisme, yaitu sebagai antioksidan dan imunomodulator. Antioksidan merupakan zat yang dapat melawan radikal bebas. Radikal bebas adalah oksidan yang sangat reaktif untuk menyerang komponen seluler (Lampe, 1999). Serangan radikal bebas pada komponen membran sel, dapat dilihat dengan menurunnya aktivitas enzim antioksidan (Zakaria *et al.*, 2000). Antioksidan yang dikonsumsi dalam jumlah tertentu dapat menurunkan risiko penyakit kardiovaskuler, menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan dan meningkatkan sistem imun (Meydani, 2000).

Isoflavon merupakan salah satu komponen fitoestrogen yang berperan sebagai antioksidan non enzimatis. Dalam kedelai terdapat tiga jenis isoflavon yaitu daidzein, glisitein, dan genistein. Pada tempe selain mengandung ketiga jenis isoflavon tersebut juga terdapat antioksidan faktor II (6,7,4-trihidroksi isoflavon) yang mempunyai sifat antioksidan paling kuat dibandingkan dengan isoflavon dalam kedelai. Antioksidan ini disintesis pada saat terjadinya proses fermentasi kedelai menjadi tempe oleh bakteri *Micrococcus tuteus* dan *Coreyne bacterium* (Pawiroharsono, 2001).

Isoflavon merupakan zat antioksidan yang sangat dibutuhkan tubuh untuk menghentikan reaksi pembentukan radikal bebas yang dapat menyebabkan tumor, kanker, penuaan dan kematian sel (Miladiyah, 2004). Sel T yang teraktivasi akan melepaskan limfokin seperti *interferon* (IFN) yang mengaktifkan efek lisis sel NK, *limfotoksin* (LT) yang dapat langsung menghancurkan sel kanker. Limfokin-limfokin tersebut akan mengerahkan dan mengaktifkan makrofag dan meningkatkan efek sitotaksik (Baratawidjaja, 2000). Hal ini sesuai dengan penelitian Zhang *et al.* (2008) yang memberikan 90 mg ekstrak isoflavon dari buah semanggi merah meningkatkan fagosit makrofag sebesar 55,56 % dan peningkatan timus indek sebesar 30,89 %.

Zink adalah salah satu mineral yang mempunyai efek positif terhadap sistem imun yang berperan untuk maturasi dan diferensiasi sel T, inhibitor apoptosis, mengaktifkan timulin, dan menstimulasi produksi IFN- γ oleh sel NK (Rink & Kirchner

2000). Studi invitro membuktikan bahwa zink dapat memacu produksi IL-1 β , IL-6, dan TNF- α oleh monosit sehingga dapat meningkatkan aktivitasnya (Winarsi *et al.*, 2005).

Zink dan Isoflavon dalam tempe bersifat sinergis. Menurut Afanas'av, *et al.*, (1999) bahwa interaksi senyawa flavonoid dan ion Zink memiliki tambahan satu pusat *radical scavenging* sehingga efek antioksidannya makin kuat. Sinergisme isoflavon dan Zink memacu sel-sel timus berfungsi dengan baik, ditunjukkan oleh aktivitas hormonnya. Peran isoflavon pada aktivitas timulin diduga dengan cara melindungi sel-sel timus dari serangan oksidan, sehingga keutuhan sel akan terjaga, sementara Zink berfungsi dalam maturasi, diferensiasi dan aktivasi sel-sel tersebut (Rink & Kirchner, 2000). Winarsi (2005) melaporkan bahwa suplementasi zink dalam minuman berisoflavon mampu menginduksi sel-sel imunokompeten, seperti sel limfosit dan sel timus. Dengan terstimulirnya sel-sel imun spesifik tersebut, diduga minuman suplemen zink juga mampu menginduksi sel-sel imun non spesifik.

Imboost adalah terapi penunjang yang digunakan untuk stimulasi sistem imun. Setiap tablet imboost mengandung *Echinacea purpurea* 250 mg, *Black Elderberry* 400 mg, *Zinc Picolinate* 10 mg. *Echinacea sp* yang terkandung dalam Imboost merupakan imunomodulator sehingga dapat meningkatkan respon imunitas seluler. *Echinacea sp* dapat memacu makrofag untuk menghasilkan sitokin yang akan membantu regulasi sistem imun. Kultur makrofag yang mendapat stimulasi *Echinacea sp* menunjukkan efek antiviral dibandingkan dengan yang tidak distimulasi (Burger *et al.*, 1997) Sitokin yang dihasilkan makrofag darah perifer mencit yang mendapat *Echinacea purpurea* akan mengaktifasi sel T helper untuk berproliferasi. Dilaporkan juga bahwa aktifasi makrofag yang berhubungan dengan aktifasi limfosit T akan meningkatkan produksi IFN- γ (Mishima *et al.*, 2004).

Penggunaan *Echinacea* terhadap paparan Rhinovirus tidak memiliki efek yang signifikan dalam mengurangi bahaya infeksi Rhinovirus. *Echinacea* tidak menurunkan insiden terhadap penyakit. Tumbuhan ini juga tidak menyembuhkan *common cold* atau influenza tetapi hanya meringankan gejala dan mengurangi durasi penyakitnya saja (Turner, *et al.*, 2005)

Kurangnya ketelitian dalam melakukan penelitian memungkinkan terjadinya bias data yang diperoleh dan terdapat pengaruh genetik dari masing - masing hewan coba dapat mempengaruhi sistem imun.

KESIMPULAN

Terdapat perbedaan rerata kemampuan fagosit antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjut dengan menggunakan tempe yang telah diolah seperti tempe yang telah di goreng, dipanggang, atau direbus.

DAFTAR PUSTAKA

- Astawan, M., 2003. *Sehat Dengan Tempe Panduan Lengkap Menjaga Kesehatan dengan Tempe*, PT Dian Rakyat, Jakarta.
- Baratawidjaja, K.G., 2000, *Imunologi Dasar. Edisi ke-5*, Balai Penerbit FKUI, Jakarta
- Bauer R, Jurcic K, Puhlmann J, Wagner H, 1988, Immunological in vivo and in vitro examinations of echinacea extracts, *Arzneimittelforschung* 38(2):276-81.
- Burger, R., Torres, A., Warren, R., Caldwell, V., Hughes, B., 1997, Echinacea-induced cytokine production by human macrophages, *Int J Immunopharmacol.*; 19(7): 371-9
- Karnen, 2001, *Imunologi Dasar* Rdisis 4, FKUI, Jakarta.
- Koswara, S., 2006, *Isoflavon Senyawa Multi Manfaat Dalam Kedelai*, dikutip dari <http://www.ebookpangan.com>. Dikutip tgl. 16.02.2011.
- Lampe, J., W., 1999, Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies, *Am J Clin Nutr* 70:475S-490S.
- Meydani, M., 2000, Effect of functional food ingredients: Vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly, *Am J Clin Nutr* 71:1665S-1668S.
- Miladiyah, I., 2004, Isoflavon Kedelai sebagai alternatif Terapi Sulih Hormon (TSH), *Jurnal Kedokteran YARSI*, Lembaga Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas YARSI, Jakarta.
- Mishima, S., Saito, K., Maruyama, H., Inoue, M., Yamashita, T., Ishida, T., Gu, Y., 2004, Antioxidant and immuno-enhancing effects of Echinacea purpurea, *Biol Pharm Bull.*;27(7):1004-9.

- Pawiroharsono, 2001, *Prospek dan Manfaat Isoflavon untuk Kesehatan*, Direktorat Teknologi Bioindustri Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, Yogyakarta.
- Rink, L., Kirchner, H., 2000, Zinc-altered immune function and cytokine production, *J Nutr* 130:1407S-1411S.
- Russel, 2004, *Safety of soy based formulas containing Isoflavones: The clinical Evidence*, American society for nutritional science.
- Sullivan, A., Jennifer, L., 2008, Echinacea-Induced Macrophage Activation, *Immunopharmacology & immunotoxicology*, 30 : 553-574
- Turner, Ronald, B., Bauer, R., Karin, W., 2005, *Echinacea Treatment of Experimental Rhinovirus Infection*, *New England Journal of Medicine* 353 (4).
- Winarsi, H., 2005, *Efek Suplementasi Zn terhadap status imun wanita premenopause yang Diintervensi dengan Minuman Berisoflavone*, Purwokewrto
- Winarsi, H., Muchtadi, D., Zakaria, F.R., Purwanto, A., 2005, *Efek Suplementasi Zn terhadap Status Imun Wanita Premenopause yang Diintervensi dengan Minuman Berisoflavon*, Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- Zakaria, F., R., Susanto, H., Hartoyo, 2000, Pengaruh konsumsi jahe (*Zingiber officinale Roscoe*) terhadap kadar malonaldehida dan vitamin E plasma pada mahasiswa pesantren Ulil Albaab Kedung Badak, *Bul Teknol Industri Pangan* 11:36-40, Bogor.
- Zhang Yong, Zhu Yu-jing, Ren Hui-ling, Sun Jing-xia, Wang Rui, 2008, Effects of Isoflavone Extract from Red Clover on Growth Performance and Immune Function in Mice, China.