

## Pengaruh Pemberian Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag pada Mencit BALB/C yang Diinokulasi Bakteri *Listeria monocytogenes*

### *The Effect of Curcuma domestica Val Extract on Phagocytic Activity of Macrophage in Listeria monocytogenes Inoculated BALB/C Mice*

Dini Pangestika<sup>1</sup>, Erna Mirani<sup>2\*</sup>, Imam D. Mashoedi<sup>3</sup>

#### ABSTRACT

**Background:** Cellular immunological response is started by macrophage activity as Antigen Presenting Cell, processing antigen in such a way that emerge interactions among immune cells. *Listeria monocytogenes* infection often used as an example to demonstrate the immune response to the intracellular bacteria. Curcuma has been proven in vitro to have immunomodulatory effect to improve the function of T cell, NK-cell, macrophage, and splenocyte. Thus, it is presumed that curcuma extract may influence macrophage phagocytic activity. The aim of this research is to find out whether there is a difference between macrophage of mice inoculated with *Listeria monocytogenes* after treatment of curcuma extract in stepped dose compared with control.

**Design and Method:** This laboratory experimental research used a Post-Test Only Control Group Design method. The samples were 20 males of balb/c mice. The mice were divided into 4 groups adopted for a week before the treatments for 20 days. The groups consist of control group, group I (receiving 0.13mg/day of curcuma extract), group II (receiving 0.26 mg/day of curcuma extract, group III (receiving 0.52mg/day curcuma extract). Mice were inoculated with *Listeria monocytogenes* on day 15. After isolation, the macrophage was desensitized using latex beads and observed under the microscope. The data were analyzed using One way Anova test was followed by Post hoc test using SPSS 15 programme.

**Result:** Index of macrophage phagocytosis in control group, group I, II, III were  $0.914 \pm 0.27$ ,  $1.940 \pm 0.42$ ,  $2.914 \pm 0.56$ ,  $1.30 \pm 0.31$  respectively. One Way Anova test showed a difference among each of groups  $P < 0.05$  except for group I and II.

**Conclusion:** Curcuma treatment can increase macrophage phagocytic activity on balb/c mice inoculated with *Listeria monocytogenes* (*Sains Medika*, 4(1):63-70).

**Key words:** Boiled curcuma, macrophage, phagocytic activity *Listeria monocytogenes*.

#### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Respon imunologik seluler dimulai dengan aktifitas makrofag yang memproses antigen sehingga menimbulkan interaksi dengan sel-sel sistem imun. Infeksi *Listeria monocytogenes* sering dipakai sebagai contoh untuk menunjukkan respon imun terhadap bakteri intraseluler. Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) terbukti secara in vitro mempunyai efek imunomodulasi yang meningkatkan fungsi dari sel T, sel natural killer (NK), makrofag, dan splenosit sehingga diperkirakan terdapat pengaruh ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) terhadap aktifitas makrofag dalam proses fagositosis. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan apakah terdapat perbedaan kemampuan fagositosis makrofag dari mencit yang diinokulasi *Listeria monocytogenes* pada pemberian Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dosis bertingkat, dibandingkan kontrol.

**Metode Penelitian:** Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan metode *post test only control group design*. Sampel penelitian adalah mencit balb/c jantan 20 ekor. Mencit dibagi 4 kelompok yang diadaptasikan selama 1 minggu kemudian diberikan perlakuan berbeda selama 20 hari. Kelompok terdiri atas kelompok kontrol, kelompok I pemberian ekstrak kunyit 0,13mg/hr, kelompok II pemberian ekstrak kunyit 0,26mg/hr, kelompok III pemberian ekstrak kunyit 0,52mg/hr. Mencit diinokulasi bakteri *Listeria monocytogenes* pada hari ke-15. Setelah diisolasi, makrofag disensitasi *latex beads* dan diamati dibawah mikroskop cahaya. Data dianalisis menggunakan uji *One Way Anova* diikuti uji *Post hoc* menggunakan

1 Fakultas Kedokteran Unissula Semarang

2 Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Unissula Semarang

3 Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Unissula Semarang

\* E-mail : zahra310@gmail.com

program SPSS 15.

**Hasil Penelitian:** Indeks fagositosis makrofag pada kelompok kontrol  $0,914 \pm 0,27$ , kelompok I  $1,940 \pm 0,42$ , kelompok II  $2,914 \pm 0,56$ , kelompok III  $1,30 \pm 0,31$ . Hasil uji *One Way Anova* didapatkan perbedaan bermakna dengan  $P = 0,00$  ( $P < 0,05$ ). Hasil analisis *Post hoc* menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar berbagai kelompok dengan  $P < 0,05$  kecuali pada kelompok perlakuan I dengan II.

**Kesimpulan:** Pemberian kunyit mampu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag pada mencit balb/c yang diinokulasi bakteri *Listeria monocytogenes*.

**Kata kunci :** kunyit, aktifitas macrophage, listeria monocytogenes

## PENDAHULUAN

Munculnya manifestasi penyakit pada seorang individu dipengaruhi oleh penyebab yang multifaktor. Pada kasus infeksi, di samping pajanan yang ditimbulkan oleh agen infeksius, proses munculnya manifestasi klinis juga dipengaruhi oleh sistem pertahanan tubuh yang lemah (Anonim, 2009). Mekanisme respon imun selular terhadap unsur-unsur patogen sangat bergantung pada kemampuan sistem imun untuk mengenal molekul – molekul asing (*antigen*) yang terdapat pada permukaan unsur-unsur patogen dan kemampuan untuk melakukan reaksi yang tepat untuk menyingkirkan *antigen* (Bellanti, 2003).

*Listeria monocytogenes* dapat hidup di dalam makrofag dan dapat menghindari mekanisme bakterisidal makrofag (Pudjonarko *et al.*, 2004). Bakteri intraseluler fakultatif ini berkemampuan untuk bertahan dan melakukan replikasi dalam sel fagosit. Hal yang dapat segera dilakukan, sebagai upaya pencegahan pada saat terjadi peristiwa adhesi (penempelan) bakteri agar agen patogen tidak berkembang lebih lanjut dalam tubuh sel inangnya (*hospes*), yaitu dengan cara meningkatkan aktivitas dan jumlah sel fagosit dengan pemberian zat-zat yang bersifat *immune booster*, sedangkan pada tahapan penetrasi dan invasi bakteri dapat dicegah dengan meningkatkan antibodi (kekebalan humoral) di dalam darah melalui program vaksinasi dan peningkatan jumlah serta aktivitas sel fagosit dan sel-sel limfosit (Hartanti, 2011).

Kunyit dalam industri farmasi, berpotensi besar dalam aktivitas farmakologi (Joe *et al.*, 2004). Hasil metabolit sekunder tanaman kunyit meliputi antibiotik, alkaloid, steroid, minyak atsiri, resin, fenol, tanin dan lain-lain. Banyak penelitian, kunyit dibuktikan sebagai bahan anti bakteri dan anti inflamasi karena kandungan senyawa kurkumin dan minyak atsirinya (Hudayani, 2008). Kurkumin menghambat mediated IL-12 (interleukin 12) Th 1. Curcumin secara spesifik melepaskan *sitostatik* dan efek sitotoksik terhadap tumor. Kurkumin meningkatkan efek terhadap fungsi utama dari sel T, sel natural

killer (NK), makrofag dan pada splenosit total *in vivo*. Studi ini memperkuat bahwa kurkumin cukup aman dan dapat digunakan sebagai immunomodulator untuk sistem imun (Berto, 2010).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kunyit (*Curcuma domestica* Val.) terhadap aktivitas fagositosis makrofag pada mencit balb/c yang diinokulasi bakteri *Listeria monocytogenes*. Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh kunyit (*Curcuma domestica* Val.) terhadap aktivitas fagositosis makrofag pada mencit balb/c yang diinokulasi bakteri intraselular *Listeria monocytogenes* dan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya serta memberikan informasi kepada masyarakat bahwa ekstrak kunyit dapat digunakan sebagai *imunostimulant*. Hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat pengaruh kunyit terhadap aktivitas fagositosis makrofag pada mencit balb/c yang diinokulasi bakteri *Listeria monocytogenes*.

#### **METODE PENELITIAN**

Penelitian eksperimental laboratorium ini menggunakan rancangan *post test only control group design*. Variabel bebas adalah ekstrak kunyit yang dibuat dalam dosis 0,13 mg/hr; 0,26 mg/hr dan 0,52 mg/hr. Variabel tergantung adalah aktivitas fagositosis makrofag. Sampel 20 ekor mencit balb/c jantan yang memenuhi kriteria inklusi, diambil dan dikelompokkan secara random dalam 4 kelompok, kemudian diadaptasikan selama 1 minggu. Kriteria inklusi meliputi mencit balb/c jantan, umur 8-12 minggu, berat rata-rata 25-30 gr, tidak ada cacat tubuh, gerak aktif dan nafsu makan baik. Sedangkan kriteria *drop out* adalah mencit mati selama perlakuan berlangsung. Perlakuan berupa pemberian ekstrak kunyit selama 20 hari dengan cara sonde lambung. Pada hari ke-15 perlakuan, mencit diinokulasi sebanyak  $10^4$  bakteri *Listeria monocytogenes* hidup dalam 0,5 ml aquadest secara intra peritoneal. Pada hari ke-21, mencit dibunuh dengan dislokasi leher. Cairan peritoneal mencit diambil untuk mengisolasi makrofag kemudian dibuat suspensi dengan kepadatan sel  $10^6$ /ml. Suspensi tersebut dikultur dalam *microplate* berisi *coverslip*. Setelah inkubasi selama 30 menit ditambah medium komplit, lalu diinkubasi selama 24 jam. Setelah kultur sehari ditambahkan suspensi lateks  $2,5 \times 10^7$ /ml sebanyak 200  $\mu$ l per sumuran. Kemudian diinkubasi lagi selama 60 menit. Setelah itu dicuci dengan PBS, difiksasi dengan methanol absolute (96%). Setelah fiksasi cukup baik dan methanol

sudah mengering dicat dengan giemsa 20% selama 30 menit. Setelah kering *dimounting* pada *object glass*. Pemeriksaan kemampuan fagositosis makrofag dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 $\times$ . Aktivitas fagositosis makrofag yang diteliti adalah prosentase sel makrofag yang memfagosit *latex beads* yang dihitung pada 100 sel makrofag  $\times$  jumlah rata-rata partikel lateks pada sel makrofag yang positif.

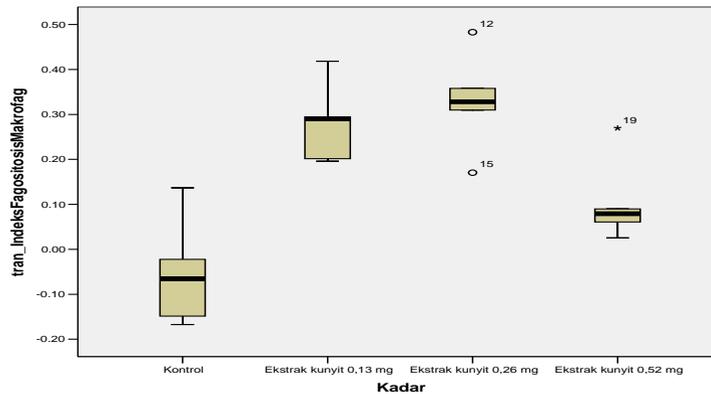
Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Histologi dan Bioteknologi Fakultas Kedokteran Univeritas Diponegoro Semarang. Data yang diperoleh dalam penelitian ini selanjutnya diuji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* kemudian dilanjutkan uji homogenitas menggunakan *Leuvene's Test* dan diteruskan dengan uji *Post hoc*.

### HASIL PENELITIAN

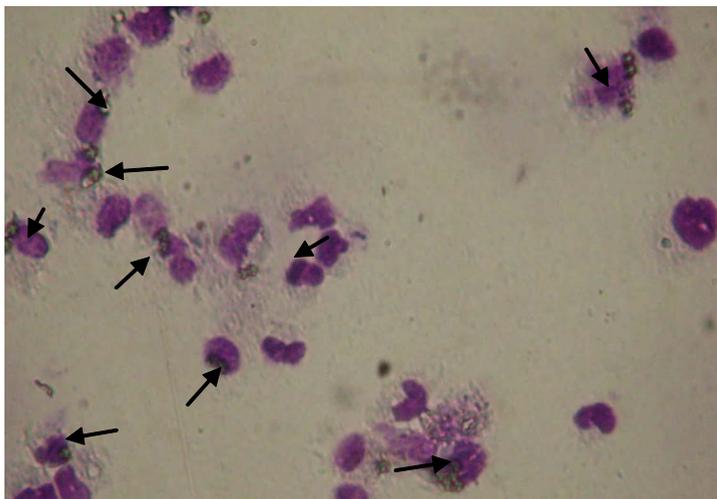
Indeks fagositosis makrofag pada kelompok II yaitu mencit balb/c yang mendapat perlakuan ekstrak kunyit 0,26 mg/hr memiliki rerata jumlah makrofag positif paling tinggi dibanding kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lainnya. Kelompok kontrol memiliki jumlah makrofag yang paling sedikit, kelompok II memiliki rerata jumlah frekuensi *Lateks beads* terfagosit paling tinggi diantara kelompok lainnya, sedangkan rerata terendah didapatkan pada kelompok kontrol. Demikian juga dengan indeks fagositosis makrofag tertinggi ditunjukkan pada kelompok II (Tabel 1. dan Gambar 1.). Makrofag yang memfagosit *lateks beads* ditunjukkan pada Gambar 2.

Tabel 1. Indeks Fagositosis Makrofag

Perlakuan	Indeks fagositosis makrofag					
	1	2	3	4	5	Rerata $\pm$ SD
Kontrol	0,86	1,37	0,71	0,95	0,68	0,914 $\pm$ 0,277
Ekstrak kunyit 0,13 mg/hr	2,62	1,59	1,95	1,97	1,57	1,94 $\pm$ 0,425
Ekstrak kunyit 0,26 mg/hr	2,04	3,04	2,28	2,13	1,48	2,194 $\pm$ 0,561
Ekstrak kunyit 0,56 mg/hr	1,2	1,06	1,23	1,86	1,15	1,3 $\pm$ 0,319



Gambar 1. Indeks fagositosis makrofag pada berbagai kelompok perlakuan



Gambar 2. Makrofag yang memfagosit *lateks beads* (Panah = partikel Lateks)

Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan diantara rata-rata hitung kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan I, II dan III ( $p < 0,05$ ). Uji *Post Hoc*, menunjukkan bahwa antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan I, II dan III terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ). Akan tetapi, kelompok perlakuan I dengan II tidak didapatkan perbedaan bermakna ( $p > 0,05$ ).

## PEMBAHASAN

Jumlah makrofag yang mampu memfagosit *lateks beads* menunjukkan bahwa, rerata jumlah makrofag tertinggi terdapat pada kelompok yang mendapatkan pemberian ekstrak kunyit 0,26 mg/hr, diikuti kelompok yang mendapatkan pemberian ekstrak kunyit 0,13 mg/hr, kemudian kelompok yang mendapatkan pemberian ekstrak kunyit 0,52 mg/hr dan kelompok kontrol.

Dosis konversi kunyit dari manusia ke mencit, yaitu 0,26 mg/hr merupakan dosis terbaik yang dapat digunakan dalam meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag pada mencit yang terinfeksi bakteri intraselular, sehingga dosis terbaik dari kunyit sebagai *imunostimulant* sudah didapatkan pada 0,26 mg/hr, yang merupakan dosis aman dan tidak toksik untuk dikonsumsi (*Commandeur JN dan NP Varmeuleun, 1996*). Penambahan atau peningkatan dosis lebih lanjut akan memacu proses hemostasis tubuh yang menjaga agar tidak terjadi peningkatan respon imun yang berlebihan yang dapat menyerang jaringan tubuhnya sendiri.

Pemberian ekstrak kunyit mampu memberikan pengaruh terhadap peningkatan aktivitas fagositosis makrofag pada mencit yang diinfeksi bakteri intraselular. Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) mengandung saponin, flavonoida, polifenol dan minyak atsiri (Anonim, 2001). Kandungan fenol dan sesquiterpen dalam minyak atsiri, berpotensi sebagai bakteristatik. Sedangkan tanin dalam kurkuminoid, mampu menstimulasi aktivitas sel fagosit. Begitupun dengan polifenol dan flavonoid, ia bersifat merusak dinding sel bakteri yang menginvasi (Anonim, 2010). Dengan adanya senyawa-senyawa yang berpotensi tersebut, maka akan semakin memudahkan sel fagosit untuk melakukan fungsinya dalam memfagositosis antigen karena adanya fungsi opsonin. Opsonin adalah zat yang berfungsi untuk meningkatkan aktivitas fagositosis (Jawetz *et al.*, 2005). Hal ini membuktikan bahwa kunyit berpotensi besar dalam aktifitas farmakologi sebagai anti inflamatori, anti imunodefisiensi, anti virus, anti bakteri, anti jamur, anti oksidan, anti karsinogenik dan anti infeksi dengan meningkatkan respon imunseluler (Joe *et al.*, 2004).

Bakteri yang berhasil masuk ke dalam tubuh segera akan mendapat respon premitif dari hospes, yaitu fagositosis (Bellanti, 2003). Mekanisme respon imun selular terhadap unsur-unsur patogen sangat bergantung pada kemampuan sistim imun untuk mengenal molekul-molekul asing (*antigen*) yang terdapat pada permukaan unsur-unsur

patogen dan kemampuan untuk melakukan reaksi yang tepat untuk menyingkirkan *antigen* (Bratawijaya, 2006). Kemampuan pengenalan antigen oleh makrofag tersebut tidak lepas dari peristiwa adherens dan adhesi yang dipermudah dengan adanya reseptor permukaan Fc $\gamma$ -R dan komplemen C3b-R serta integrin yang berperan dalam adhesi sebagai opsonisasi. Tidak kalah penting juga adalah reseptor yang memiliki fungsi dalam mengenali antigen *non-self*, meliputi : CD14, *scavenger polisakarida* dan *toll like reseptor* (Baratawidjaja, 2006).

Aktivitas fagositosis diawali oleh ikatan antar reseptor dengan ligand sebagai bagian dari permukaan partikel atau sel (Subowo, 2009). Selanjutnya dalam aktivitas intraselular, defensin yang mengandung sejumlah besar arginin dalam bentuk polypeptida, membunuh mikroba melalui interaksi dengan membran sel mikroba yang membentuk lubang-lubang kecil yang mengeluarkan metabolit esensial keluar sel. Makrofag aktif melepas IL-1 dan IFN- $\alpha$  untuk menghambat bakteri tertentu (*Listeria*) dan meningkatkan proliferasi sel T yang sangat berpengaruh dalam peningkatan aktivitas makrofag (Baratawidjaja, 2004).

## KESIMPULAN

Kunyit berpengaruh terhadap aktivitas fagositosis makrofag pada mencit balb/c yang diinokulasi bakteri *Listeria monocytogenes*.

## SARAN

Penelitian selanjutnya dapat melakukan dengan menggunakan zat aktif khusus yang terdapat dalam kandungan kunyit yang dimungkinkan memiliki potensi utama sebagai *imunomodulator* dari kunyit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim., 2001, Inventaris Tanaman Obat Indonesia I, Jilid 2, hal 313-314, Badan Penelitian dan pengembangan Kesehatan DepKes RI., Jakarta
- Anonim, 2009, Sistem Imun si Penjaga Tubuh, [www.maluqada.com](http://www.maluqada.com), Dikutip tgl. 24.05.2011.
- Anonim, 2010, Kunyit Sebagai Imunomodulator, [www.maluqada.com](http://www.maluqada.com), Dikutip tgl. 24.05.2011.
- Baratawidjaja, K. G., 2006, *Imunologi Dasar*, FKUI, Jakarta.

- Bellanti, Joseph A., 2003. *Imunologi III*, Gajah Mada University press, Yogyakarta, 296-297.
- Berto, U., 2010, *Imunomodulator - imunosupresan*, [http://bertousman.blogspot.com/2010/05/immunomodulator imunosupresan. Html](http://bertousman.blogspot.com/2010/05/immunomodulator%20imunosupresan.html). 21 September 2011.
- Commandeur, J.N. and N.P. Vermeulen, 1996. *Cytotoxicity and cytoprotective activities of natural compounds*. The case of curcumin. *Xenobiotica* 26 : 667 - 680.
- Hartanti, 2011, Imunisasi, [www.infeksi.com](http://www.infeksi.com), Dikutip tgl. 24.06.2011.
- Hidayani, M., 2008, Efek Antidiare Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Pada Mencit Jantan Galur *Swiss Webster*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Solo.
- Jawetz, Melnick, & Adelberg's, 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, 1, Salemba Medika, Jakarta, 309 – 310.
- Joe, B.; M. Vijaykumar and B.R. Lokesh, 2004. Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 44 (2): 97 - 112.
- Pudjonarko, D., Susilaningsih, N., & Sukmaningtyas, H., 2004, Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Omega-3 dan Vaksinasi BCG terhadap Daya Bunuh Makrofag (Studi Eksperimental pada Mencit Tua Balb/c), *M Med Indonesiana*, 39 (1), 11-7.
- Subowo, 2009, *Imunobiologi*, CV Sagung Seto, Jakarta.