



**PENGARUH PEMBERIAN REBUSAN  
BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*) TERHADAP  
AKTIVITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG PADA  
MENCIT BALB/c YANG DIINFEKSI  
*Salmonella typhimurium***

**ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH**

Disusun dalam rangka memenuhi  
tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh  
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Disusun Oleh :

**Aurelia**  
NIM : G2A002033

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2006**

# THE EFFECT OF MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*) ON MACROPHAGE PHAGOCYTOSIS ACTIVITY OF BALB/C MICE, INFECTED BY *Salmonella thypimurium*

Aurelia<sup>1</sup> Winarto<sup>2</sup>

## ABSTRACT

**Background:** *Phaleria macrocarpa* or Mahkota dewa has immunostimulant effect by increasing the proliferation and cell T activity, IL-2 activity, as well as macrophage activity. During the process of phagocytosis in intracellular activity, macrophage plays a role as a professional phagocyte and Antigen Presenting Cell (APC). Because of this, *Phaleria macrocarpa* can be used to increase the ability of the immune system towards pathogen bacteria infection found in intracellular level. *Salmonella thypimurium*, one of pathogen bacteria, will be used for the purpose of this research.

**Objectives:** To know the effect of macrophage phagocytosis activity on Balb/c mice which has been given *Phaleria macrocarpa* and control group. To know the effect of the dose of the *Phaleria macrocarpa* and the macrophage phagocytosis activity.

**Methods:** Experimental research using the post test only control group design. Research sample were 30 female mice. The mice were divided into 6 groups which were named K1 (not given any special treatment), P1(0,12ml *Phaleria macrocarpa*), P2(infected with *S. thypimurium*), P3(given 0,06ml *Phaleria macrocarpa* and infected with *S. thypimurium*), P4 (given 0,12ml *Phaleria macrocarpa* and infected with *S. thypimurium*), and P5(given 0,24ml *Phaleria macrocarpa* and infected with *S. thypimurium*). Data was collected by counting the macrophage activity on the latex bead

**Results:** Mean of Phogocytosis Index : K=0,367; P1=0,475; P2=0,518; P3=;0,577; P4=0,706; P5=0,825. The comparation with more than 2 independent variables between control group and experimental group has significant outcame with ( $p \leq 0,05$ ).

**Conclusions:** There was a significant difference on macrophage phagocytosis activity of BALB/C mice which had given *Phaleria macrocarpa* and infected by *Salmonella thypimurium* .

**Keywords:** *Phaleria macrocarpa*, macrophage phagocytosis, *Salmonella thypimurium*

# PENGARUH PEMBERIAN REBUSAN BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*) TERHADAP AKTIVITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG MENCIT BALB/C YANG DIINFEKSI *Salmonella*

*thypimurium*

Aurelia<sup>1</sup> Winarto<sup>2</sup>

## ABSTRAK

**Latar Belakang :** *Phaleria macrocarpa* atau Mahkota dewa mempunyai efek imunostimulan berupa peningkatan proliferasi dan aktivitas sel T, peningkatan aktivitas IL-2 serta aktivasi makrofag. Dalam infeksi intraseluler, makrofag berperan sebagai fagosit profesional dalam proses fagositosis dan *Antigen Presenting Cell (APC)*. Dari efek tersebut, maka mahkota dewa dapat digunakan untuk meningkatkan imunitas tubuh terhadap infeksi bakteri patogen intraseluler. Salah satu bakteri patogen intraseluler adalah *Salmonella typhimurium*.

**Tujuan:** Mengetahui pengaruh aktivitas fagositosis makrofag mencit Balb/c pada kelompok yang diberi *Phaleria macrocarpa* dan kelompok kontrol. Serta mengetahui pengaruh peningkatan dosis rebusan buah *Phaleria macrocarpa* pada aktivitas fagositosis makrofag.

**Metode:** Penelitian eksperimental dengan desain *the post test only control group*. Sampel penelitian 30 ekor mencit betina dibagi 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol (tidak diberi perlakuan), P1(diberi 0,12ml rebusan MD), P2(diinfeksi *Salmonella thypimurium*), P3(diberi 0,06ml rebusan MD dan diinfeksi *S. thypimurium*), P4(diberi rebusan 0,12ml MD dan diinfeksi *S. thypimurium*), P5(diberi 0,24ml rebusan MD dan diinfeksi *S. thypimurium*). Data didapat dari perhitungan kemampuan fagositosis makrofag pada latex bead.

**Hasil:** Rerata indeks fagositosis untuk masing-masing kelompok : K=0,367; P1=0,475; P2=0,518; P3=0,577; P4=0,706; P5=0,825. uji beda dengan lebih dari dua sampel independen antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan hasilnya terdapat perbedaan yang bermakna ( $p \leq 0,05$ )

**Kesimpulan:** Terjadi peningkatan bermakna nilai indeks fagositosis makrofag pada mencit Balb/c yang diberi mahkota dewa dan diinfeksi *Salmonella thypimurium*.

**Kata kunci :** mahkota dewa, fagositosis makrofag, *Salmonella thypimurium*

## PENDAHULUAN

Pengobatan yang menggunakan bahan-bahan tradisional mulai berkembang akibat ketidakpuasan masyarakat pada obat-obatan dan tindakan medis yang belum mampu menyembuhkan beberapa penyakit serta mahal biaya yang diperlukan.

*Phaleria macrocarpa* atau mahkota dewa merupakan salah satu obat tradisional yang sedang berkembang di Indonesia. Daun dan buah mahkota dewa digunakan untuk pengobatan penyakit kanker, jantung, liver, diabetes mellitus, hipertensi, reumatik dan asam urat, ginjal, penambah stamina, penyakit kulit, alergi, penurunan kolesterol serta obat untuk ketergantungan narkoba<sup>1,2</sup>.

Mahkota dewa mengandung berbagai senyawa diantaranya *alkaloid, terpenoid, saponin, resin, lignan, flavanoid* dan *tannin* yang berefek antitumor, anti HIV, immunostimulant, antioksidan, analgesik, antiradang (anti inflamasi), antivirus, antibakteri, antifungal, antidiare, antihepatotoksik, antihiperlipidemia dan sebagai vasodilator<sup>3,4,5</sup>.

Respon imun merupakan hasil interaksi antara antigen dengan sel-sel imunokompeten, termasuk mediator-mediator yang dihasilkannya. Fungsi utama respon imun adalah untuk membedakan antara *self* (milik tubuh sendiri) dengan *nonself* seperti halnya mikroorganisme patogen, tumor, jaringan cangkokan, atau substansi lain yang dimasukkan ke dalam tubuh. Respon imun utama tergantung pada tiga tipe sel yaitu makrofag, limfosit T, dan limfosit B<sup>5</sup>.

Dalam kaitannya dengan sistem imun, mahkota dewa mempunyai efek immunostimulant berupa peningkatan proliferasi dan aktivitas sel T, peningkatan aktivitas IL-2 serta aktivasi makrofag. Diduga senyawa flavanoid buah mahkota dewa berperan mengaktifkan makrofag. Dalam infeksi intraseluler, makrofag berperan sebagai fagosit profesional dalam proses fagositosis dan *Antigen Presenting Cell (APC)*. Dari efek tersebut, maka mahkota dewa dapat digunakan untuk meningkatkan imunitas tubuh terhadap infeksi bakteri patogen intraseluler.<sup>6,7,8</sup>

*Salmonella typhimurium* merupakan salah satu bakteri patogen intraseluler. Respon imun yang terbentuk akibat infeksi *Salmonella typhimurium* adalah tipe *cell-mediated* dan tergantung pada limfosit T dan makrofag yang diaktifkan. Respon imun spesifik teraktivasi oleh antigen salmonella. Limfosit T akan mengaktifkan makrofag dan sel NK. Makrofag distimulasi untuk menghasilkan interleukin 12 (IL-12). Sel NK akan memproduksi IFN- $\gamma$ <sup>6</sup>.

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh rebusan buah *Phaleria macrocarpa* terhadap aktivitas fagositosis makrofag pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan membandingkan aktivitas fagositosis makrofag mencit Balb/c pada kelompok yang diberi *Phaleria macrocarpa* dan kelompok kontrol.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di LPPT Universitas Gajah Mada yang berlangsung dari tanggal 21 Juni-7 Juli 2006.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan pendekatan *post test only control group design*. Subjek penelitian ini menggunakan 30 ekor mencit Balb/c dengan kriteria inklusi adalah mencit betina sehat, umur 6-8 minggu, berat badan 20-25 gram sedangkan kriteria eksklusi adalah mencit mati selama perlakuan.

Mencit diadaptasikan selama 1 minggu dengan diberi makan dan minum secara ad libitum. Kemudian mencit dibagi menjadi 6 kelompok secara acak masing-masing terdiri dari 5 ekor sesuai dengan standar WHO.<sup>9</sup>

**Tabel 1. Kelompok perlakuan**

Kelompok	Rebusan Buah Mahkota Dewa	Infeksi <i>Salmonella typhimurium</i>
Kontrol (K)	Tidak diberikan	Tidak diberikan
Perlakuan 1 (P1)	0,12 ml per hari	Tidak diberikan
Perlakuan 2 (P2)	Tidak diberikan	1 x 10 <sup>7</sup> kuman intra peritoneal
Perlakuan 3 (P3)	0,06 ml per hari	1 x 10 <sup>7</sup> kuman intra peritoneal
Perlakuan 4 (P4)	0,12 ml per hari	1 x 10 <sup>7</sup> kuman intra peritoneal
Perlakuan 5 (P5)	0,24 ml per hari	1 x 10 <sup>7</sup> kuman intra peritoneal

Rebusan buah mahkota dewa produk Ning Harmanto diberikan melalui sonde lambung dari hari pertama.(lihat lampiran 3). Infeksi *Salmonella typhimurium* diberikan pada hari ke-8, kemudian pada hari ke-13 mencit diterminasi untuk dilakukan pengambilan cairan intraperitoneal. Setelah itu dilakukan pemeriksaan aktivitas fagositosis makrofag menggunakan latex beads.

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil perhitungan kemampuan fagositosis makrofag yaitu persentase sel yang memfagosit latex yang dihitung pada 200 sel makrofag kali jumlah rata-rata

partikel latex pada sel makrofag yang positif.<sup>11</sup>

Data dianalisa menggunakan SPSS 13.00 for windows, diuji normalitasnya dengan *Shapiro-Wilk*, kemudian diuji dengan *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan Mann-Whitney test.

## HASIL PENELITIAN

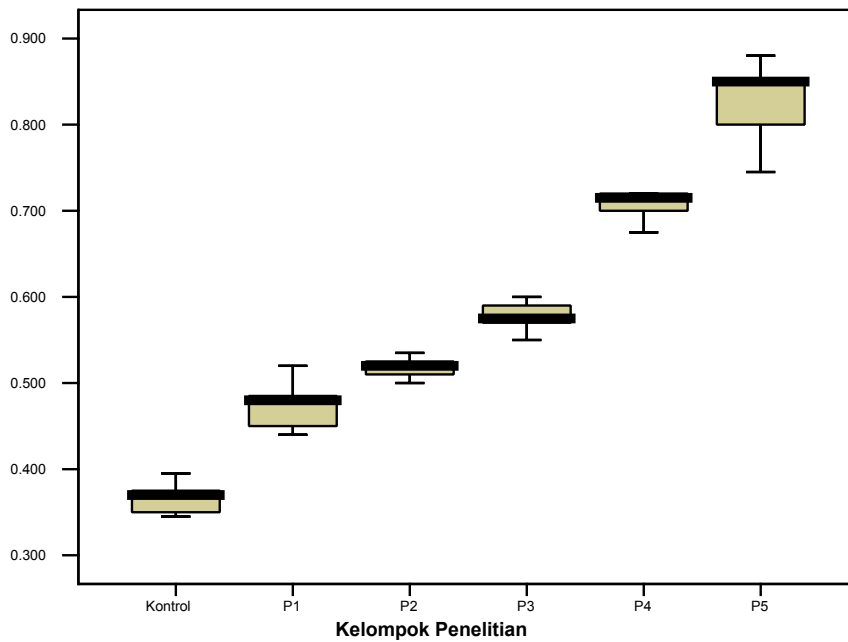
Dari analisa uji *Shapiro-Wilk*, didapatkan distribusi data yang normal ( $p > 0,05$ ) (lihat lampiran 1). Sebaran data indeks fagositik dapat dilihat pada tabel 2. Sebaran box-plot data indeks fagositik dapat dilihat pada gambar 1.

**Tabel 2. Rerata Indeks Fagositik**

<b>Kelompok</b>	<b>N</b>	<b>Mean</b>	<b>SD</b>
K	5	0,367	0,020
P1	5	0,475	0,032
P2	5	0,518	0,014
P3	5	0,577	0,019

P4	5	0,706	0,019
P5	5	0,825	0,053

**Gambar 1. Box Plot Rerata Indeks Fagositosis**



**Tabel 3. Analisis data dengan uji Mann-Whitney**

	K	P1	P2	P3	P4
P1	0,009*				
P2	0,009*	0,036*			
P3	0,009*	0,009*	0,009*		
P4	0,009*	0,009*	0,009*	0,009*	
P5	0,009*	0,009*	0,009*	0,009*	0,009*

\* $p \leq 0,05$  : terdapat perbedaan yang bermakna

Data indeks fagositik diuji statistik dengan menggunakan *Kruskal Wallis* dan menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p=0,000$ ) (lihat lampiran 2). Uji dilanjutkan menggunakan analisa Mann-Whitney yang hasilnya dapat dilihat pada tabel 3.

## PEMBAHASAN

Rata-rata sebaran data index fagositik pada setiap kelompok menunjukkan peningkatan. Mahkota dewa terdiri dari senyawa flavanoid yang berfungsi untuk meningkatkan sistem imun.<sup>3</sup> Pemberian infeksi *Salmonella typhimurium* pada kelompok P2 juga meningkatkan indeks fagositik makrofag yang merupakan reaksi sistem imun tubuh terhadap infeksi. Peningkatan dosis juga sejalan dengan peningkatan rata-rata indeks fagositik seperti terlihat pada kelompok P3, P4, dan P5.

Dilihat dari uji statistik diatas, mahkota dewa berkhasiat meningkatkan indeks fagositik secara bermakna. Selain flavanoid, terdapat pula senyawa saponin. Kedua senyawa tersebut memiliki efek imunostimulant.<sup>3</sup>

Reaksi sistem imun tubuh mencit sendiri juga meningkatkan indeks fagositik makrofag. Hal ini terlihat dari peningkatan indeks yang bermakna pada kelompok P2 dibandingkan dengan kelompok kontrol. Antigen *S. syphimurium* mengaktivasi sel imun spesifik yang pada akhirnya menstimulasi makrofag dan sel NK. Ada tiga fungsi makrofag dalam imunitas bawaan. Pertama, memfagositosis partikel asing seperti mikroorganisme, makromolekul termasuk antigen bahkan sel ato jaringan yang mengalami kerusakan atau mati. Kedua, makrofag berfungsi sebagai antigen presenting cell kepada sel T. Ketiga, makrofag juga memproduksi sejumlah sitokin. Stimulasi sel makrofag akan meningkatkan kemampuan fagositosis sel makrofag yang berdampak pada penigkatan nilai indeks fagositik.<sup>6</sup>

Peningkatan bermakna juga terlihat sejalan dengan peningkatan dosis mahkota dewa. Dosis 0,24 ml yang digunakan pada penelitian ini setara dengan 600 ml pada dosis manusia, pada dosis inilah terjadi peningkatan tertinggi. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan index fagositosis tergantung pada besarnya dosis yang diberikan. Tentunya masih diperlukan penelitian lebih lanjut dalam menentukan dosis optimal.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

Pada penelitian ini terjadi peningkatan bermakna nilai indeks fagositosis makrofag pada mencit Balb/c yang diberi mahkota dewa. Peningkatan nilai indeks fagositosis sejalan dengan peningkatan dosis mahkota dewa yang diberikan.

Penelitian lebih lanjut dengan dosis yang lebih bervariasi diharapkan dapat menyimpulkan dosis efektif pemberian buah mahkota dewa. Penelitian lebih lanjut juga dibutuhkan untuk mengetahui waktu pemberian yang optimal.

## **UCAPAN TERIMAKASIH**

Dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada dr. Winarto DMM, Sp M, Sp MK selaku dosen pembimbing penelitian ini, dr Hardian selaku penguji pada ujian proposal, DR. Akhmad Ismail dan drs. Suhardjono, Apt. selaku penguji ujian artikel, Ibu Istini dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu(LPPT) Universitas Gajah Mada, Staf Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas

Diponegoro dan teman-teman kelompok KTI serta semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Winarto WP. *Mahkota dewa budi daya dan pemanfaatan untuk obat*. Jakarta : Penebar Swadaya, 2003
2. Harmanto N. *Mahkota dewa : obat pusaka para dewa*. Jakarta : Agromedia Pustaka, 2003
3. Sumastuti R, Sonlimar M. *Efek sitotoksik ekstrak buah dan daun mahkota dewa [Phaleria macrocarpa (Sceff) Boerl.] terhadap sel hela*. Yogyakarta : Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UGM [on line]  
: URL.<http://www.tempointeraktif.com/medika/online/index-isi.asp?file=art-3>
4. Subowo. *Imunologi*. Cetakan ke-1. Jakarta : Penerbit Angkasa, 1993
5. Roitt I, Brostoff J, Male D. *Immunology*, 3<sup>rd</sup> ed. London : Mosby-Year Book Europe Ltd, 1993
6. Abbas A, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and molecular immunology : antigen presentation and cell antigen recognition*. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia : WB Saunders, 1997
7. Anonymous. Constituent:Flavanoids. Available from:  
[http://www.landfood.ubc.ca/courses/fnh/410/lipids/5\\_5.htm](http://www.landfood.ubc.ca/courses/fnh/410/lipids/5_5.htm)
8. Baratawidjaja KG. *Imunologi dasar*. Edisi ke-5. Jakarta : Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas

Indonesia, 2002

9. Research Guideline for Evaluating The Safety and Efficacy of Herbal Medicines Manila: World Health Organization Regional Office for the Western Pacific, 1993: 35
10. Coligan JE, Kruisbeek AM, Margulies DH, Shevach EM, Stober W. Current protocols in immunology, Volume 2. New York : John Wiley & Sons. Inc.: 1991
11. Kresno SB. *Imunologi: diagnosis dan prosedur laboratorium*. ed. 3. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 2001

## LAMPIRAN 1

### Tests of Normality

	Kelompok Penelitian	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Index Fagositosis	Kontrol	.946	5	.708
	P1	.949	5	.732
	P2	.990	5	.980
	P3	.979	5	.928

P4	.821	5	.118
P5	.917	5	.511

\* This is a lower bound of the true significance.

a Lilliefors Significance Correction

## LAMPIRAN 2

### Kruskal-Wallis Test

#### Ranks

	Kelompok Penelitian	N	Mean Rank
Index Fagositosis	Kontrol	5	3.00
	P1	5	8.50
	P2	5	12.50
	P3	5	18.00
	P4	5	23.00
	P5	5	28.00
	Total	30	

#### Test Statistics(a,b)

	Index Fagositosis
Chi-Square	27.954
df	5
Asymp. Sig.	.000

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: Kelompok Penelitian

### LAMPIRAN 3

#### REBUSAN BUAH MAHKOTA DEWA

##### Bahan dan alat

1. irisan buah mahkota dewa kering
2. air 600 ml
3. kuali untuk merebus
4. kompor

##### Cara Membuat :

Rebus 5 irisan buah mahkota dewa dengan 600 ml air sampai didapatkan rebusan sebanyak 300 ml.

Dosis ini akan dikonversikan berdasarkan berat badan dari manusia dengan berat badan 50 kg ke mencit dengan berat badan 20 gr.

Dosis rebusan mahkota dewa pada mencit 20 gr:

$$= (0,02 \text{ kg} : 50 \text{ kg}) \times 300 \text{ ml}$$

$$= 0,12 \text{ ml per hari}$$

Sehingga untuk tiap kelompok mencit akan mendapat rebusan mahkota dewa sebanyak : Kelompok K

= (-)

Kelompok P1 = 0,12 ml/hari

Kelompok P2 = (-)

Kelompok P3 = 0,06 ml/hari

Kelompok P4 = 0,12 ml/hari

Kelompok P5 = 0,24 ml/hari

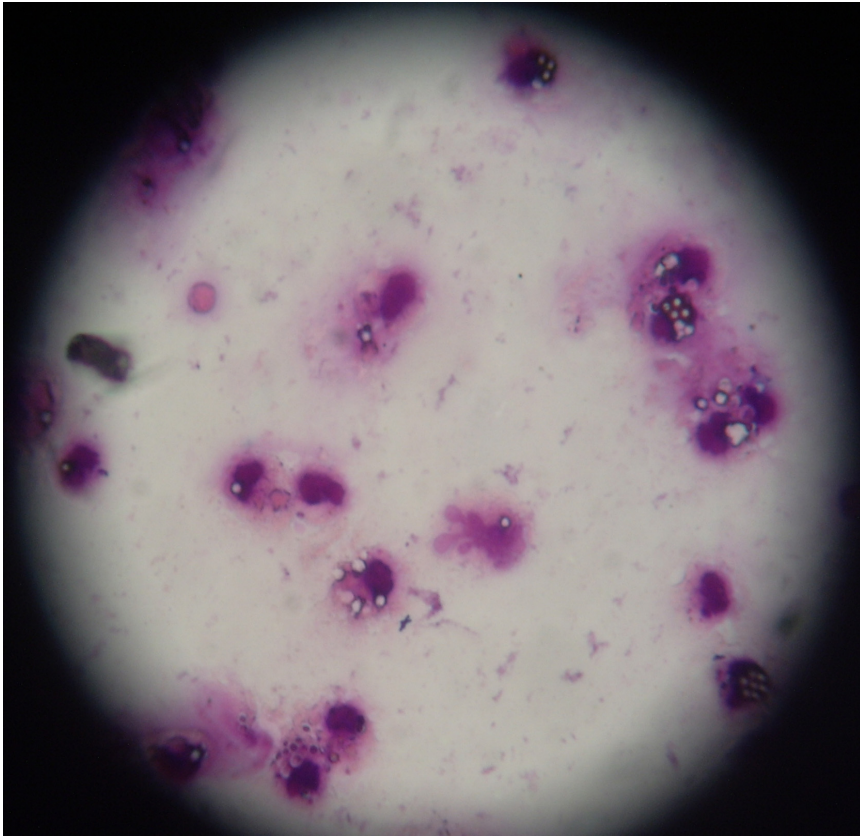
Dalam pemberiannya, dosis rebusan ini diberikan sekali sehari.

#### LAMPIRAN 4

##### **PROSEDUR PEMERIKSAAN FAGOSITOSIS MAKROFAG DENGAN LATEX BEADS**

1. Suspensi makrofag yang telah dihitung dikultur kedalam microplate 2 well yang telah diberi coverslip bulat, setiap sumuran 200  $\mu$ l ( $5 \times 10^5$  sel). Lalu inkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5%, 37°C selama 30 menit.
2. Tambahkan medium komplet 1 ml pada masing-masing sumuran kemudian inkubasi selama 2 jam.
3. Sel dicuci dengan RPMI 2 kali, tambahkan medium komplet 1 ml pada tiap sumuran. Lalu inkubasi selama 24 jam.
4. Makrofag peritoneum yang dikultur sehari sebelumnya cuci dengan RPMI sebanyak 2 kali.
5. Latex Beads diresuspensi sehingga mendapat konsentrasi  $2,5 \times 10^7$ /ml
6. Tambahkan suspensi Latex 200  $\mu$ l ke tiap sumuran, lalu inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C CO<sub>2</sub>.
7. Cuci 3 kali dengan PBS untuk menghilangkan partikel yang tidak difagosit.
8. Keringkan pada suhu ruang, lalu fiksasi dengan methanol absolut.
9. Setelah kering, lakukan pewarnaan dengan memasukkan giemsa 20% ke dalam tiap sumuran secukupnya sampai seluruh permukaan coverslip terendam selama 30 menit.
10. Cuci dengan aquadest hingga bersih lalu angkat coverslip dari sumuran dan letakkan diatas kertas tissue. Ingat jangan sampai terbalik permukaan coverslipnya. Keringkan pada suhu kamar.
11. Setelah kering mounting coverslip ke object glass
12. Hitung prosentase sel yang memfagosit partikel Latex dihitung dari 200 sel yang diperiksa dengan mikroskop cahaya, dengan perbesaran objektif 40 x dan replikasi perhitungan 3x.

LAMPIRAN 5



Makrofag yang memfagosit latex