

DOSEN MUDA



LAPORAN PENELITIAN

AKTIFITAS FAGOSITOSIS DAN PRODUKSI NITRIT OKSIDA MAKROFAG
DARI MENCIT YANG DIIMUNISASI LISTERIA MONOCYTOGENES
PADA PEMBERIAN GANODERMA LUCIDUM

Oleh :

Ratna Damma Purnawati, dr
Neni Susilaningsih, dr, MSi
Dwi Ngestiningsih, dr, MKes

UNIVERSITAS DIPONEGORO

SEMARANG

Biaya dari Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia,
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional
Tahun Anggaran 2002

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
September, 2002


UPI-POSTAL INDIPI

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN

- 1.a. Judul : Aktifitas Fagositosis Dan Produksi Nitrit Oksida Makrofag Dari Mencit Yang Diimunisasi Listeria Monocytogenes Pada Pemberian Ganoderma Lucidum
- b. Kategori : II
2. Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap dan Gelar : dr. Ratna Damma Purnawati
- b. Jenis Kelamin : Perempuan
- c. Pangkat/Golongan/NIP : Penata Tk I/IIIb/131 916 037
- d. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
- e. Fakultas/Jurusan : Kedokteran
- f. Universitas : UNIVERSITAS DIPONEGORO
- g. Bidang Ilmu : Kesehatan/Imunologi
3. Jumlah Tim Peneliti : 3 orang
4. Lokasi Penelitian : Bag. Biokimia & Lab. Bioteknologi FK UNDIP
5. Bila penelitian ini merupakan peningkatan kerjasama kelembagaan sebutkan
- a. Nama Instansi :
- b. Alamat :
6. Jangka Waktu penelitian : mulai tanggal 9 April sampai dengan 1 Nopember 2002
7. Biaya yang dibelanjakan : Rp. 6.000.000,- (Enam Juta Rupiah)

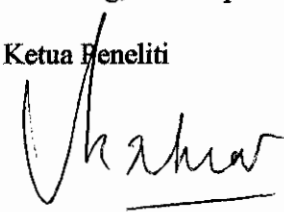
Semarang, 30 September 2002

Mengetahui
Dekan FK UNDIP



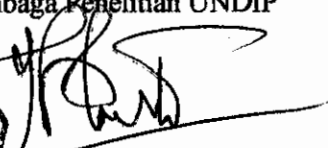
M. Anggoro DB Sachro, dr. DTM&H. SpAK.
NIP. 130.345.793

Ketua Peneliti



Ratna Damma Purnawati, dr
NIP. 131 916 037

Mengetahui
Ketua Lembaga Penelitian UNDIP



Dr. I. Riwanto, dr. SpBD
NIP. 130 529 454

RINGKASAN :

AKTIFITAS FAGOSITOSIS DAN PRODUKSI NITRIT OKSIDA MAKROFAG DARI MENCIT YANG DIIMUNISASI LISTERIA MONOCYTOGENES PADA PEMBERIAN GANODERMA LUCIDUM

Ratna Damma Purnawati, Neni Susilaningsih & Dwi Ngestiningsih.
Tahun 2002, 18 halaman

Ganoderma lucidum (GL) yang mempunyai nama lain jamur *ling zhi* atau telah digunakan sebagai obat tradisional sejak ribuan tahun yang lalu, terutama di negara Cina. *Ganoderma lucidum* dipercaya dapat menyembuhkan penyakit kencing manis, hipertensi dan merupakan obat awet muda. Reishi mengandung bahan-bahan seperti sterol, coumarin, mannitol, polisakarida, triterpenoid dan asam ganoderat. Dari beberapa penelitian dilaporkan bahwa *Ganoderma lucidum* mempunyai efek hepatoprotektif, analgetik dan anti inflamasi, anti oksidan, anti agregasi trombosit dan efek hipoglikemik, anti fibrotik serta anti tumor.

Dari penelitian *in vitro* telah dibuktikan bahwa *Ganoderma lucidum* mempunyai efek imunomodulasi, berupa perubahan fenotip sel T atau berupa peningkatan fungsi sel T. Dilaporkan pula bahwa kandungan jamur ini yang berupa polisakarida (β -8-(1 \rightarrow 3)-D-glucan) merupakan zat "*carcinostatic*" yang bekerja melalui peningkatan imunitas tubuh. Peneliti lain melaporkan bahwa Ekstrak GL mempunyai aktivitas antimikrobia terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Stahylococcus aureus*.

Makrofag sebagai salah satu sel dalam sistem imun merupakan sel fagosit yang dapat membunuh sel asing termasuk bakteri. Dalam proses fagositosis, bakteri yang ditelan selanjutnya akan dihancurkan di dalam makrofag dengan adanya ROI dan NO.

Permasalahan dalam penelitian ini adalah : apakah pemberian Ekstrak *Ganoderma Lucidum* dengan dosis bertingkat berpengaruh terhadap aktivitas makrofag dalam fagositosis, maupun dalam memproduksi NO dari mencit yang diinokulasi *L. monocytogenes*.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan apakah terdapat perbedaan kemampuan fagositosis dan produksi Nitrit Oksida oleh makrofag dari mencit yang diinokulasi *L. monocytogenes* pada pemberian ekstrak *Ganoderma Lucidum* dosis bertingkat, dibanding kontrol ?

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental sesungguhnya dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan di Lab. Biokimia dan Lab. Bioteknologi FK UNDIP selama 6 bulan.

Sampel penelitian ini adalah mencit jantan strain Balb/c, umur 8-12 minggu, sehat dan telah adaptasi selama 1 minggu. Sebanyak 40 ekor mencit dibagi menjadi 8 kelompok, masing-masing 5 ekor dan diberi pakan standart serta minum secukupnya. Kelompok K1 adalah kelompok kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan apa-apa, sedangkan kelompok K2 adalah kelompok kontrol positif yang diimunisasi *Listeria* tanpa diberi GL. Kelompok P1, P2, P3, P4, P5 dan P6 yang masing-masing diimunisasi *Listeria* dan diberi ekstrak GL dengan dosis bertingkat yaitu berturut-turut : 0,1 mg; 0,25 mg; 0,5 mg; 1 mg; 2 mg; dan 4 mg per hari selama 14 hari. Pada hari ke 15 semua mencit dikorbankan dengan cara dislokasi tulang leher kemudian diambil/disolasi makrofag peritonealnya untuk pemeriksaan fagositosis menggunakan partikel latex serta pemeriksaan NO menggunakan reagens Gries. Data yang dikumpulkan adalah data primer dari perhitungan jumlah partikel latex yang difagosit/100 makrofag, serta produksi NO yang berasal dari mencit kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Data yang diperoleh diolah dan dianalisis menggunakan SPSS 10.0 for windows, dengan uji statistik Anova atau Kruskal-Wallis dan apabila diperoleh perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji statistik Post Hoc (Tukey HSD) atau Mann-Whitney. Taraf signifikansi diterima bila nilai $p \leq 0,05$

Hasil analisa dengan uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney didapatkan bahwa pemberian ekstrak GL akan meningkatkan produksi NO makrofag pada mencit yang diimunisasi *Listeria monocytogenes*. Peningkatan produksi NO makrofag tampak sesuai dengan peningkatan dosis GL.

Berdasarkan uji Anova didapatkan perbedaan sangat bermakna untuk jumlah latex yang difagosit/100 makrofag antara kelompok yang diuji. Dengan uji *Post Hoc (Tukey HSD)*, tampak bahwa aktifitas fagositosis makrofag dari mencit yang diinfeksi *Listeria monocytogenes* tidak berbeda bermakna antara kelompok yang tidak diberi *Ganoderma* dibanding kelompok yang diberi *Ganoderma lucidum* dosis 0,25 – 2 mg/hr. Pada pemberian *Ganoderma* 4 mg/hr tampak terjadi penurunan aktifitas fagositosis secara bermakna dibanding kelompok yang hanya disuntik *Listeria monocytogenes*, yang dapat disebabkan karena pengaruh tingginya produksi NO.

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak GL dosis 0,25 – 2 mg/hr selama 14 hari pada mencit Balb/c yang diimunisasi *Listeria monocytogenes* tidak berpengaruh pada aktifitas fagositosis makrofag, tetapi pada dosis 4 mg/hari menyebabkan penurunan aktifitas fagositosis makrofag. Pemberian ekstrak GL dengan dosis 0,1 – 4 mg/hr selama 14 hari pada mencit Balb/c yang diimunisasi *Listeria monocytogenes* meningkatkan produksi NO makrofag mencit yang diimunisasi *Listeria monocytogenes*. Tampak peningkatan produksi NO makrofag sesuai dengan peningkatan dosis *Ganoderma lucidum* yang diberikan.

Berdasarkan hasil tersebut maka *Ganoderma lucidum* dapat dimanfaatkan sebagai imunomodulator yang dapat memacu produksi NO, namun perlu diperhatikan dosisnya jangan terlalu tinggi. Untuk mengetahui efek imunomodulator yang lain perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap komponen lain sistem imun seperti sel NK, limfosit serta beberapa sitokin. Untuk dapat menentukan dosis yang optimal serta aman perlu dilakukan penelitian terutama mengenai efek toksiknya serta menentukan LD50 pada hewan coba untuk kemudian dilanjutkan penelitian pada manusia baik sukarelawan sehat maupun penderita infeksi tertentu.

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan YME, karena atas ridlo-Nya maka penelitian ini dapat diselesaikan tepat waktu. Penelitian ini dilaksanakan dalam rangka menjalankan salah satu tugas pokok sebagai dosen, dengan dana yang diperoleh dari DIKTI melalui Penelitian Dosen Muda.

Pada kesempatan ini kami sampaikan terima kasih kepada :

1. Bag. Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia, Dirjen DIKTI, DEPDIKNAS, yang telah memberi dana penelitian dosen muda.
2. Ketua Lemlit UNDIP
3. Dekan FK UNDIP
4. Ketua Bag. Biokimia dan Bag. Histologi FK UNDIP
5. Direktur Eksekutif Lab. Bioteknologi Kedokteran FK UNDIP
6. PT. Sidomuncul, yang telah memberi bahan mentah *Ganoderma lucidum*

Semoga penelitian ini dapat memberi manfaat bagi masyarakat maupun para peneliti, untuk dapat menjadi dasar penelitian selanjutnya maupun untuk pemanfaatan *Ganoderma lucidum* sebagai imunomodulator.

Semarang, 30 September 2002

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

	halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN	1
II. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	2
III. TINJAUAN PUSTAKA	3
IV. METODE PENELITIAN	7
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	12
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	16
DAFTAR PUSTAKA	17
LAMPIRAN	19

DAFTAR TABEL

	halaman
Tabel 1. Nilai p perbandingan antar kelompok perlakuan dengan Uji Post Hoc (Tukey HSD) pada jumlah latex yang difagosit/100 makrofag	13
Tabel 2. Nilai p perbandingan antar kelompok perlakuan dengan Uji Mann-Whitney pada produksi NO makrofag	14

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 1. Grafik Rata-rata Jumlah Partikel Latex yang difagosit/100 makrofag	12
Gambar 2. Grafik Rata-rata Produksi NO makrofag	13

DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
Lampiran 1. Foto fagositosis makrofag	19
Lampiran 2. Proscdur Isolasi Makrofag	20
Lampiran 3. Prosedur Pemeriksaan fagositosis makrofag	21
Lampiran 4. Prosedur Pemeriksaan NO	22
Lampiran 5. Personalia tenaga peneliti	23

I. Pendahuluan

Ganoderma lucidum yang mempunyai nama lain jamur ling zhi, reishi atau di Indonesia dikenal sebagai jamur kayu telah digunakan sebagai obat tradisional sejak ribuan tahun yang lalu, terutama di negara Cina. *Ganoderma lucidum* dipercaya dapat menyembuhkan penyakit kencing manis, hipertensi dan merupakan obat awet muda.¹ Reishi mengandung bahan-bahan seperti sterol, coumarin, mannitol, polisakarida, triterpenoid dan asam ganoderat². Dari beberapa penelitian terakhir dilaporkan bahwa *Ganoderma lucidum* mempunyai efek hepatoprotektif^{3,4}, analgetik dan anti inflamasi^{5,6}, anti oksidan⁷, anti agregasi trombosit dan efek hipoglikemik², anti fibrotik serta anti tumor^{4,8,9}

Dari penelitian *in vitro* telah dibuktikan bahwa *Ganoderma lucidum* mempunyai efek imunomodulasi, berupa perubahan fenotip sel T atau berupa peningkatan fungsi sel T⁸. Hasil studi baru-baru ini memperlihatkan bahwa kandungan jamur ini yang berupa polisakarida (β -8-(1 \rightarrow 3)-D-glucan) merupakan zat "carcinostatic" yang bekerja melalui peningkatan imunitas tubuh.¹⁰ Lisdar IS, et al (1997) melaporkan bahwa Ekstrak GL mempunyai aktivitas antimikrobal terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Stahylococcus aureus*.¹¹

Respons imun seluler (*cell mediated immunity*) pertama kali dilaporkan oleh George Mackaness pada tahun 1950 sebagai kekebalan terhadap bakteri intraseluler *Listeria monocytogenes*. Bakteri intraseluler menstimulasi makrofag mensekresikan IL-12 yang mengaktifkan sel NK, menstimulasi perkembangan sel T_H1 dan mengaktifkan sel T CD8⁺. Ke tiga jenis sel yang teraktifkan tersebut mensekresikan *interferon gamma* (IFN- γ) yang akan mengaktifkan makrofag sehingga makrofag tersebut dapat membunuh bakteri intraseluler.¹²

Makrofag sebagai salah satu sel dalam sistem imun merupakan sel efektor yang penting, yang dapat membunuh sel tumor dan sel asing. Makrofag akan memproses dan menyajikan antigen serta mensekresi beberapa sitokin yang mengatur elemen imunitas humoral dan seluler.¹³

Listeria monocytogenes merupakan bakteri intraseluler yang dapat hidup dalam makrofag karena menghasilkan hemolisin yang dapat melubangi fagosom, sehingga terhindar dari mekanisme pembunuhan dalam fagolisosom dari makrofag.¹² Namun *Listeria monocytogenes* tidak dapat mencegah makrofag untuk memproses fragmen imunogenik dan

menyajikannya dalam bentuk yang berikatan dengan MHC untuk sel T.¹⁴ Hsieh CS, et al (1993) juga melaporkan bahwa polarisasi sel Th1 sangat tergantung pada aktivitas makrofag terhadap *Listeria monocytogenes*.¹⁵

Kemampuan makrofag membunuh bakteri tergantung pada senyawa *oxygen dependent* (*hydrogen peroxide, singlet oxygen, hydroxy radicals*) dan senyawa *oxygen independent* (*lisosome, lactoferin, cationic protein*).¹⁶ Makrofag juga bertanggung jawab terhadap produksi *nitric oxide* (NO), dimana sintesa NO dari makrofag yang teraktivasi berkaitan dengan efek sitotoksiknya seperti pada proses pembunuhan intraseluler.¹⁷ Menurut Dietert R et al (1995), NO mampu membunuh dan atau menghambat pertumbuhan sel tumor, parasit, bakteri dan jamur.¹⁸ Rementeria A, et al (1995) melaporkan bahwa sintesis NO merupakan mekanisme primer dalam membunuh *Candida* dari sel peritoneal yang diaktivasi dengan infeksi *Candida albicans*.¹⁹

Peneliti tertarik untuk meneliti hal ini karena belum ada penelitian terhadap pengaruh Ekstrak *Ganoderma Lucidum* terhadap aktivitas makrofag dalam fagositosis, maupun dalam memproduksi NO.

Rumusan Masalah :

1. Apakah terdapat perbedaan kemampuan fagositosis oleh makrofag dari mencit yang diinokulasi *L. monocytogenes* pada pemberian ekstrak *Ganoderma Lucidum* dosis bertingkat, dibanding kontrol ?
2. Apakah terdapat perbedaan kemampuan produksi Nitrit Oksida oleh makrofag dari mencit yang diinokulasi *L. monocytogenes* pada pemberian ekstrak *Ganoderma Lucidum* dosis bertingkat, dibanding kontrol ?

II. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan Umum :