

**PENGARUH PEMBERIAN TOLAK ANGIN ANAK CAIR
TERHADAP KADAR NITRIT OKSIDA (NO) PADA MENCIT SWISS**

THE EFFECT OF TOLAK ANGIN ANAK CAIR ON NITRIC OXIDE LEVEL IN SWISS MICE

**LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN
KARYA TULIS ILMIAH**

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan guna mencapai derajat sarjana
strata-1 kedokteran umum**

**DEVI YUSTISIANA BUDHYSULISTYARINI
G2A 006 044**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
TAHUN 2010**

PENGARUH PEMBERIAN TOLAK ANGIN ANAK CAIR TERHADAP KADAR NITRIT OKSIDA (NO) PADA MENCIT SWISS

Devi Yustisiana B.¹, Edi Dharmana²

ABSTRAK

Latar Belakang : Nitrit oksida (NO) merupakan salah satu efektor sistem imun yang diproduksi oleh makrofag untuk proses destruksi intraselular di mana aktivitas makrofag tersebut dipengaruhi oleh IFN- γ . Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa Tolak Angin Cair (TAC) dapat meningkatkan kadar IFN- γ .

Tujuan Penelitian : Mengetahui pengaruh pemberian Tolak Angin Anak Cair (TAAC) terhadap kadar NO pada mencit swiss.

Desain dan Metode : Penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *post test only control group design* dengan menggunakan mencit swiss usia 12 minggu berat 25-35 gram sebanyak 40 ekor dibagi menjadi 4 kelompok : K (kontrol air), P1 (TAAC dosis 0,125 ml), P2 (TAAC dosis 0,25ml), P3 (TAAC dosis 0,5 ml). Perlakuan diberikan selama tujuh hari. Kemudian kadar NO diperiksa menggunakan reagen *Griess* dan dibaca dengan *ELISA reader*. Hasil dianalisis, menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*, kemudian dianalisis dengan metode *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan uji *post hoc* dengan metode *Mann-Whitney*.

Hasil : Terdapat perbedaan bermakna kadar NO antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi TAAC ($p=0.001$) dan kelompok yang terdapat perbedaan bermakna terhadap kontrol adalah kelompok dosis 0,125 ml ($p=0,019$) dan dosis 0,25 ml ($p=0,001$)

Kesimpulan : Tolak Angin Anak Cair meningkatkan kadar NO pada mencit swiss.

Kata kunci : nitrit oksida, IFN- γ , makrofag

THE EFFECT OF TOLAK ANGIN ANAK CAIR ON NITRIC OXIDE LEVEL IN SWISS MICE

Devi Yustisiana B.¹, Edi Dharmana²

ABSTRACT

Background : Nitric oxide is one of effectors of immune system that produced by macrophages affected by IFN- γ for intracellular destruction. Previous study proved that Tolak Angin Cair (TAC) can increase IFN- γ level.

Objective : This study was aimed to analyze the effect of Tolak Angin Anak Cair (TAAC) on the NO level in swiss mice.

Design and method : Experimental laboratory study with post test only control group design were performed. Forty swiss mice weighing 25-35 grams of 12 weeks old were equally divided into four groups which were : K (without any administration of TAAC), P1 (TAAC 0,125 ml), P2 (TAAC 0,25 ml), P3 (TAAC 0,5 ml). Intervention of each group were given in seven days. Then, NO level was examined using *Griess* reagent and read by ELISA reader. The results were analyzed using the test of normality *Shapiro-Wilk* continued with *Kruskal-Wallis* test and post hoc analysis *Mann-Whitney*.

Result : There was a significant difference between control group and groups given TAAC ($p=0,001$). Significant difference occurred at the group that given TAAC 0.125 ml ($p=0,019$) and group given TAAC 0,25 ml ($p=001$)

Conclusion : Tolak Angin Anak Cair can increase the NO level in swiss mice.

Keywords : nitric oxide, IFN- γ , macrophages

PENDAHULUAN

Tubuh memiliki sistem kekebalan yang merupakan pertahanan tubuh terhadap unsur-unsur patogen. Sistem ini melibatkan sel, molekul dan jaringan yang dapat mengkoordinasi suatu reaksi terhadap mikroba yang disebut dengan respon imun yang terdiri atas respon imun nonspesifik dan spesifik. Respon imun nonspesifik yang merupakan pertahanan pertama dalam melawan mikroba memiliki beberapa komponen antara lain sitokin dalam darah dan sel-sel fagositosis seperti neutrofil, sel NK dan makrofag.¹ Fagositosis oleh makrofag dipengaruhi oleh interferon- γ (IFN- γ) dan dalam proses tersebut makrofag akan mengeluarkan *reactive oxygen intermediate* (ROI) dan nitric oxide (NO) untuk proses destruksi intraselular.²

Sistem kekebalan yang bekerja dengan baik dapat melindungi tubuh, untuk itu dapat dilakukan upaya untuk meningkatkan respon imun dengan memberikan suatu imunostimulan, yaitu suatu substansi yang dapat menstimulasi sistem kekebalan dengan meningkatkan aktivitas komponen-komponennya.³ Imunostimulan dapat diperoleh dari produk herbal, salah satu dari produk herbal yang telah terbukti dapat menstimulasi sistem kekebalan tubuh adalah Tolak Angin Cair (TAC) yang diproduksi oleh PT. Sido Muncul, di mana penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa Tolak Angin Cair dapat meningkatkan limfosit dan sitokin tipe 1 termasuk IFN- γ di dalamnya.^{4,5} Beberapa studi telah melaporkan bahwa beberapa kandungan herbal seperti yang terdapat pada TAC mempunyai efek bakterisidal. ⁴

Produk herbal lain yang diproduksi oleh PT. Sido Muncul adalah Tolak Angin Anak Cair yang komposisinya sama dengan Tolak Angin Cair namun dengan kadar yang lebih rendah dan ditambahkan zat tanduk sebagai antipiretik.

Dengan mengetahui manfaat Tolak Angin Cair sebagai imunostimulan yang dapat meningkatkan jumlah limfosit T dan kadar IFN- γ , serta mengetahui komposisi Tolak Angin Anak Cair yang mirip dengan Tolak Angin Cair dalam kadar yang lebih rendah, maka pada penelitian ini akan dianalisa apakah Tolak Angin Anak Cair juga memiliki pengaruh terhadap respon imun pada mencit Swiss yang diukur dengan parameter kadar nitrit oksida (NO) yang akan dihasilkan oleh makrofag pada proses destruksi intraselular yang dipengaruhi oleh IFN- γ .

Penelitian dilakukan pada mencit karena penelitian experimental pada anak-anak tidak dibenarkan secara etika. Mencit dipakai dengan alasan binatang ini mempunyai ciri imun sistem mirip manusia.

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis pengaruh pemberian Tolak Angin Anak Cair terhadap respon imun mencit Swiss yang diukur dengan parameter kadar NO. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kegunaan Tolak Angin Anak Cair sebagai imunostimulan dan untuk membantu meningkatkan penggunaan obat herbal.

METODE

Ruang lingkup keilmuan penelitian ini adalah farmakologi dan imunologi. Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-April tahun 2009, bertempat di bagian parasitologi Fakultas Kedokteran UNDIP.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium murni dan desain yang dipakai adalah *Post Test Only Control Group Design* yang menggunakan hewan percobaan sebagai subjek penelitian, yaitu dengan cara membandingkan hasil observasi pada kelompok kontrol dan perlakuan. Perlakuan dilakukan dengan pemberian Tolak Angin Anak Cair dan kontrol. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian Tolak Angin Anak Cair dengan dosis 0,125 ml, 0,25 ml dan 0,50 ml menggunakan skala numerik sedangkan variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar NO dengan skala numerik. TAAC diberikan dengan dosis 1 kali perhari peroral dengan sonde lambung selama 2 minggu dalam variasi 3 dosis bertingkat : 0,125 ml; 0,25 ml; 0.50 ml. Kadar nitrit oksida yang diukur adalah nitrit oksida yang dihasilkan oleh makrofag, pemeriksaan menggunakan sampel kultur makrofag peritoneal. Populasi penelitian ini adalah mencit Swiss yang dikembangkan di laboratorium UPHP UGM Yogyakarta. Kriteria Inklusi dari penelitian ini adalah mencit Swiss sehat berusia 12 minggu dengan berat badan 25-35 gram, sedangkan termasuk dalam kriteria eksklusi jika secara makroskopis terdapat abnormalitas anatomis.

Penelitian ini menggunakan sampel 10 ekor mencit setiap kelompok perlakuan, yang terdiri dari 5 ekor jantan dan 5 ekor betina dan 10 tikus sebagai kontrol, yang terdiri dari 5 ekor jantan dan 5 ekor betina, sehingga jumlah keseluruhan tikus yang diperlukan adalah 10 ekor x 4 kelompok = 40 ekor. Untuk menghindari bias karena \square eneti variasi umur dan berat badan, maka pengelompokan sampel dilakukan secara acak walaupun secara \square enetic sama, kemudian dilakukan

penimbangan sebelum dan sesudah perlakuan. Pemilihan sampel dilakukan secara *simple random sampling*, di mana semua objek atau elemen populasi memiliki kesempatan yang sama sebagai sampel.

Data dianalisa secara statistik dengan program *SPSS 15.00 for Windows*. Analisis deskriptif menampilkan nilai mean, median, modus, simpangan baku. Hasil ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik box-plot. Untuk melihat pengaruh Tolak Angin Anak Cair terhadap kadar NO digunakan uji *Kruskall-Wallis*, lalu dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

HASIL

Sampel memenuhi seluruh syarat penelitian. Populasi sampel berjumlah 40 ekor mencit Swiss berusia 12 minggu dengan berat badan 25-35 gram yang diperoleh dari laboratorium UPHP UGM Yogyakarta. Populasi sampel kemudian dibagi secara *random sampling* menjadi 4 kelompok yaitu kelompok K, P1, P2, dan P3 yang masing-masing berjumlah 10 ekor. Selama masa penelitian terdapat 3 mencit yang mati (drop out) karena kesalahan cara pengambilan sampel. Selama penelitian berlangsung tidak didapatkan masalah, komplikasi maupun efek samping yang berarti.

Setelah mengukur kadar NO, lalu dilakukan uji statistik maka didapatkan data sebagai berikut :

Tabel 1. Nilai kadar NO pada setiap kelompok perlakuan.

<i>Kelompok perlakuan</i>	<i>Rerata</i>	<i>Median</i>	<i>Simpang Baku</i>
Kontrol	2.36	2.28	0.21

TAAC dosis 0.125 ml	3.26	2.84	1.03
TAAC dosis 0,25 ml	4.72	4.54	1.83
TAAC dosis 0,50 ml	2.64	2.24	0.99

35

Tabel 1 menunjukkan nilai median kadar NO untuk kelompok kontrol adalah 2,28 μM sedangkan pada pemberian dosis 0,125 ml 2,84 μM , lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Pemberian dosis 0,25 ml menunjukkan nilai median 4,54 μM lebih tinggi dari kelompok dosis 0,125, sedangkan pada pemberian dosis 0,5 ml menunjukkan nilai median 2,24 μM lebih rendah daripada kelompok kontrol, dosis 0,125 ml, dan dosis 0,25 ml.

Gambar 1. Boxplot kadar NO

Pada gambar boxplot diatas terlihat median tidak semua berada ditengah hanya, berarti distribusi data tidak normal. Pada boxplot ini terlihat bahwa nilai median pada kelompok TAAC dosis 0,25 ml memiliki skor tertinggi dibandingkan kelompok lainnya. Semakin tinggi skor median menunjukkan semakin tinggi kadar NO pada kelompok tersebut.

Uji normalitas data dengan menggunakan tes *Shapiro-Wilk* didapatkan salah satu kelompok yaitu kelompok kontrol berdistribusi tidak normal dengan nilai $p=0,000$. Sehingga, dilakukan transformasi data kadar NO, kemudian data yang telah ditransformasi diuji normalitasnya dengan menggunakan tes *Shapiro-Wilk*, kemudian didapatkan hasil transformasi data kadar NO kelompok kontrol tetap menunjukkan distribusi tidak normal dengan nilai $p=0,000$ sehingga pada analisis data digunakan uji non-parametrik *Kruskall-Wallis*.

Pada analisis menggunakan *Kruskall-Wallis* didapatkan nilai $p=0,001$ ($<0,05$) sehingga dapat disimpulkan paling tidak terdapat perbedaan kadar NO antara dua kelompok. Untuk mengetahui kelompok yang mempunyai perbedaan maka dilakukan analisis *Post Hoc* dengan uji *Mann-Whitney*.

Tabel 2. Nilai p kadar NO antara setiap perlakuan dengan uji *post hoc Mann-Whitney*

KELOMPOK PERLAKUAN	Kontrol	TAAC 0,125 ml	TAAC 0,25 ml	TAAC 0,5 ml
Kontrol	-	0,019*	0,001*	0,422
TAAC 0,125 ml	-	-	0,057	0,060
TAAC 0,25 ml	-	-	-	0,004*
TAAC 0,5 ml	-	-	-	-

Kelompok kontrol dan dosis 0,125 ml diuji dengan *Mann-Whitney* dan didapatkan nilai $p=0,019$ ($<0,05$). Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan dosis 0,125 ml. Kelompok kontrol dan dosis 0,25 ml didapatkan nilai $p=0,001$ maka terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan dosis 0,25 ml. Kelompok kontrol dan dosis 0,5 ml didapatkan nilai $p=0,422$ maka tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan dosis 0,5 ml. Kelompok dosis 0,125 ml dan dosis 0,25 ml didapatkan nilai $p=0,057$ ($>0,05$) maka tidak terdapat perbedaan bermakna antara dosis 0,125 ml dan 0,25 ml.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang telah diolah dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*, didapatkan perbedaan bermakna kadar NO di antara kelompok-kelompok perlakuan ($p=0,001$, $<0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna pemberian

Tolak Angin Anak Cair terhadap peningkatan kadar NO. Perbedaan bermakna terjadi pada kelompok dosis 0,125 ml ($p=0,019$) dan 0,25 ml ($p=0,001$), namun tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan dosis 0,5 ml ($p=0,422$).

Peningkatan kadar NO secara bermakna pada dosis 0,125 ml dan 0,25 ml membuktikan bahwa TAAC yang memiliki konsentrasi lebih rendah dari TAC masih memiliki efek imunostimulasi, hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Dharmana Edi yang menunjukkan bahwa TAC dapat meningkatkan respon imun⁴. Data yang diperoleh juga sejalan dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Tonks A J et al pada tahun 2003 yang membuktikan bahwa madu dapat meningkatkan kadar sitokin yang diproduksi monosit pada manusia.¹³ Penelitian lain juga menyebutkan bahwa jahe dapat meningkatkan kadar sitokin dan *granulocyte-macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF) pada manusia.¹⁴ Penelitian tersebut mendukung penelitian ini karena TAAC mengandung madu dan jahe.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan hal yang tidak sejalan yaitu pada kelompok dosis 0,5 ml didapatkan penurunan kadar NO hingga mendekati kadar pada kelompok kontrol. Data tersebut menunjukkan bahwa TAAC diperkirakan memiliki fungsi sebagai immunomodulator yaitu substansi yang dapat meningkatkan fungsi respon imun sampai batas tertentu. Immunomodulator berfungsi mengatur kerja respon imun dengan menambah atau mengurangi kemampuan sistem kekebalan tubuh dalam memproduksi efektor kekebalan¹⁰, sehingga diharapkan dapat mempertahankan sistem imun dalam keadaan yang seimbang.²

Sifat immunomodulasi dari TAAC yang menekan fungsi sistem imun adalah menguntungkan sebab selain memiliki manfaat sebagai agen mikrobisidal, NO yang bersifat radikal bebas jika diproduksi berlebihan dapat merusak jaringan sehat dan dapat menyebabkan immunosupresi.⁹

Mengingat NO yang bersifat radikal bebas maka disarankan untuk penelitian selanjutnya menggunakan variasi lamanya pemberian dan dilihat pengaruhnya terhadap kadar NO.

SIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian Tolak Angin Anak cair memberikan pengaruh meningkatkan kadar NO pada mencit Swiss.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abbas, K A, Lichtman A H, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology. Sixth ed. Philadelphia: W B Saunders Company; 2007.
2. Baratawidjaja, K. G., Rengganis, Iris. Imunologi Dasar, Edisi kedelapan. Jakarta : Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2009.
3. Mosby's Medical Dictionary, 8th edition, 2009.
4. Dharmana E, Susilaningsih N. Pengaruh pemberian tolak angin cair terhadap jumlah sel T, kadar IFN- γ dan IL-4 serta fungsi hati dan ginjal orang sehat. Semarang : FK UNDIP, 2007.
5. Kamus Kedokteran Dorland, Edisi-29. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2006

6. Sherwood, L. Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem edisi 2. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2001.
7. Guyton A C, Hall, J. E. Fisiologi Kedokteran edisi 9. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1997.
8. Clancy J Jr. Basic Concepts Inn Immunology. New York : Mcgraw-Hill Companies, 1998.
9. Subagyo A, Aditama T Y. Pemeriksaan interferon gamma dalam darah untuk deteksi infeksi tuberkulosis. Jakarta : FKUI, 2006.
10. Budiman B. Peranan protektif dan non-protektif Nitric Oxide (NO) pada respon imun (Makalah Immunologi). Semarang : FK UNDIP, 2006.