



**PENGARUH PEMBERIAN SIMUNOX DOSIS BERTINGKAT
TERHADAP FUNGSI FAGOSITOSIS MAKROFAG PADA
MENCIT *SWISS***

*THE EFFECT OF GRADUAL DOSES OF SIMUNOX TO THE MACROPHAGE
PHAGOCYTTIC FUNCTION IN THE SWISS MICE*

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

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

**DEWI MEIKA M.
G2A 006 045**

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

PENGARUH PEMBERIAN SIMUNOX DOSIS BERTINGKAT TERHADAP FUNGSI FAGOSITOSIS MAKROFAG PADA MENCIT *SWISS*

Dewi Meika¹, Henny Kartikawati²

ABSTRAK

Latar belakang : Dengan tujuan preventif dan kuratif terhadap penyakit infeksi dan keganasan, manusia memerlukan imunostimulan untuk meningkatkan kualitas sistem imun tubuh yang nonspesifik maupun spesifik. Simunox adalah salah satu produk herbal yang dapat berperan sebagai imunostimulan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian Simunox terhadap fungsi fagositosis makrofag. Dimana makrofag adalah sel utama yang berperan dalam pertahanan non spesifik.

Metode : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan *The Post Test-Only Control Group Design*. Populasi penelitian adalah mencit *Swiss* yang dikembangkan di laboratorium UPHP UGM Yogyakarta, sampel dipilih secara *simple random* dibagi menjadi 4 kelompok dimana tiap kelompok terdapat 5 ekor mencit. Pada penelitian ini 1 kelompok sebagai kontrol hanya diberi aquades dan 3 kelompok perlakuan yang diberi Simunox dengan variasi dosis 0,04 ml; 0,08 ml; 0,16 ml. Perlakuan diberikan selama 7 hari, pada hari ke-8 dilakukan terminasi dan pengambilan makrofag peritoneal. Selanjutnya dihitung prosentase makrofag aktif.

Hasil : Analisis deskriptif didapatkan nilai *mean* tertinggi pada kelompok perlakuan 3. Dengan uji *Saphiro-Wilk*, didapatkan distribusi data tidak normal karena kelompok perlakuan 1 $p=0,004$. Uji nonparametrik *Kruskal-Wallis*, didapatkan perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p = 0,003$). Uji *Mann-Whitney* menunjukkan nilai p antar dua kelompok, sebagian besar hasil menunjukkan perbedaan bermakna ($p<0,05$) yaitu K-P1, K-P2, K-P3 ($p=0,009$) dan P2-P3 ($p=0,016$)

Simpulan : Pemberian Simunox mampu meningkatkan fungsi fagositosis makrofag dibandingkan kelompok kontrol.

Kata kunci : Simunox, fungsi fagositosis makrofag

¹Mahasiswa program pendidikan S-1 kedokteran umum FK Undip

²Staf pengajar Bagian Parasitologi FK Undip, Jl.Dr.Sutomo No.18 Semarang

THE EFFECT OF GRADUAL DOSES OF SIMUNOX TO THE MACROPHAGE PHAGOCYtic FUNCTION IN THE SWISS MICE

ABSTRACT

Background : For the preventive and curative purpose against infectious diseases and malignancies, humans need an immunostimulant to improve the quality of nonspecific or specific immune system. Simunox is one of the herbal products that may act as an immunostimulant. The study aims to investigate the effect of Simunox to the macrophage phagocytic function. Where macrophages are the main cells that play a role in non-specific defense.

Methods : This was an laboratory experimental research with The Post Test-Only Control Group Design. Study population was Swiss mice that was raised in laboratories UPHP UGM Yogyakarta, sample was divided into 4 groups with simple random sampling where there are 5 mice each group. In this study, one group was given only distilled water as control and 3 treatment groups fed with various doses of Simunox 0,04 ml; 0,08 ml; 0,16 ml. Treatment was given for 7 days, on days-8 the mice were terminated and peritoneal macrophages were collected. Then, the percentage of active macrophages is calculated.

Result : Descriptive analysis showed that the highest mean value was in treatment group 3. Shapiro-Wilk test, obtained the data distribution is not normal because treatment group $p=0,004$. Nonparametric Kruskal-Wallis test, showed significant differences between groups ($p=0,003$). Mann-Whitney test showed p value between two groups, the majority of results showed significant differences ($p < 0,05$) there are K-P1, K-P2, K-P3 ($p=0,009$) and P2-P3 ($p=0,016$).

Conclusion : Simunox administration was able to enhance macrophage phagocytic function compared to control group.

Keywords: Simunox, macrophage phagocytic function

PENDAHULUAN

Manusia memiliki sistem pertahanan tubuh yang lengkap untuk menghadapi invasi organisme patogen. Sistem pertahanan tubuh atau sistem imun, pada dasarnya dibagi menjadi dua yaitu sistem imun non spesifik dan spesifik. Organisme patogen yang masuk ke dalam tubuh dikenal sebagai benda asing atau antigen. Antigen tersebut pertama akan dikenal oleh sistem imun non spesifik, selanjutnya akan ditangkap, diolah, dan dipresentasikan kepada sistem imun spesifik. Tugas ini dilakukan oleh makrofag yaitu sel yang merupakan komponen sistem imun non spesifik, berperan utama dalam proses fagositosis, dan juga memiliki kemampuan sebagai *antigen presenting cell* (APC) yang dapat memberikan sinyal kepada sistem imun spesifik sehingga teraktivasi dan mampu bereaksi dengan antigen.¹

Manusia memerlukan imunostimulan untuk meningkatkan kualitas imun tubuh dalam menghadapi beberapa penyakit infeksi dan keganasan. Salah satu produk herbal yang dapat berperan sebagai imunostimulan adalah Simunox. Simunox mengandung tanaman obat berkhasiat, antara lain *Amomi fructus* (Kapulogo), *Foeniculli fructus* (Adas), *Isorae fructus* (Kayu Ulet), *Myristicae semen* (Pala), *Burmanni cortex* (Manis Jangan), *Centellae herba* (Pegagan), *Caryophylli fructus* (Cengkeh), *Parkiae semen* (Kedawung), *Oryza sativa* (Beras), *Menthae arvensitis herba* (Poko), *Zingiberis rhizoma* (Jahe), *Usneae thallus* (Kayu Angin), *Phyllanthi herba* (Meniran), dan *Mel depuratum* (Madu).

Komponen Simunox hampir sama dengan Tolak Angin Cair dengan tambahan ekstrak meniran yang telah dibuktikan sebagai imunostimulan.² Penelitian sebelumnya bahwa Tolak Angin Cair secara signifikan dapat meningkatkan jumlah sel T perifer. Jika sel T meningkat, produksi IFN γ akan meningkat, dan diharapkan kenaikan IFN γ ini mampu meningkatkan aktivitas makrofag.³

Penelitian ini mengamati, apakah pemberian Simunox dapat meningkatkan fungsi fagositosis makrofag mencit *Swiss*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian Simunox terhadap fungsi fagositosis makrofag mencit *Swiss* serta membandingkannya dengan kelompok kontrol.

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efek Simunox terhadap fungsi fagositosis makrofag, meningkatkan pemanfaatan obat tradisional, dan sebagai bahan pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut. Efek Simunox terhadap fungsi fagositosis makrofag belum pernah diteliti sebelumnya.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai Maret 2010, mencit dipelihara di ruang pemeliharaan hewan coba Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Isolasi makrofag dan pemeriksaan fagositosis makrofag berlangsung di Laboratorium Drug Screening Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimental dengan desain *The Post Test-Only Control Group Design*, menggunakan mencit *Swiss* jantan yang telah dikembangkan di laboratorium UPHP UGM Yogyakarta, dengan kriteria inklusi umur 3 bulan, berat badan 40 gram, dalam keadaan sehat tanpa abnormalitas anatomi yang tampak, serta aktivitas dan tingkah laku normal. Sedangkan kriteria eksklusi mencit mati sebelum dilakukan observasi.

Variabel bebas penelitian ini adalah pemberian Simunox dengan variasi dosis 0,04 ml; 0,08 ml; dan 0,16 ml, skala numerik. Variabel tergantung penelitian ini adalah prosentase makrofag yang memfagositosis latex, skala numerik. Pemberian Simunox adalah pemberian Simunox sachet produksi PT. Industri Jamu dan Farmasi Sido Muncul dengan dosis 1 X 1 perhari peroral dengan sonde lambung. Prosentase makrofag yang memfagositosis latex adalah prosentase makrofag yang memfagositosis latex dihitung diantara 100 makrofag. Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil penelitian yaitu prosentase makrofag yang memfagositosis latex pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Mencit swiss sebanyak 20 ekor diadaptasikan selama 7 hari, hari berikutnya mencit dibagi secara *simple random sampling* menjadi 4 kelompok yaitu satu kelompok kontrol (K) yang diberi aquades dan tiga kelompok perlakuan

dengan dosis Simunox bervariasi. Kelompok perlakuan 1 (P1) dosis simunox 0,04 ml, kelompok perlakuan 2 (P2) dosis Simunox 0,08 ml, dan kelompok perlakuan 3 (P3) dosis Simunox 0,16 ml. Mencit diberi perlakuan selama seminggu, pada hari ke-8 dilakukan terminasi dan isolasi makrofag. Setelah itu menghitung prosentase makrofag pada hari berikutnya. Prosedur isolasi makrofag menggunakan metode yang dimodifikasi oleh Lewis J.G⁴ dan prosedur pemeriksaan fagositosis makrofag dengan latex beads menggunakan metode oleh Neldon DL, Lange RW, Rosenthal GJ, Comment CE, Burleson R.⁵

Hasil penghitungan prosentase makrofag selanjutnya diolah dan dilakukan analisa statistik analitik dan deskriptif. Dalam analisis deskriptif dihitung kecenderungan sentral dan sebaran, dan disajikan dalam bentuk diagram *box-plot*. Selanjutnya dinilai normalitas dengan uji *Saphiro-Wilk*. Jika distribusi data dinilai normal maka dilanjutkan ke uji hipotesis dengan uji *one way analysis of variance (ANOVA)* yang dilanjutkan dengan uji *Post hoc-Bonferroni*. Apabila distribusi data dinilai tidak normal maka uji hipotesis dilakukan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Batas nilai yang dianggap signifikan dalam penelitian adalah jika $p < 0,05$ dengan interval kepercayaan 95%.

HASIL

Seluruh sampel berjumlah 20, tiap kelompok terdiri dari 5 sampel. Prosentase makrofag didapatkan dari hasil pembagian jumlah makrofag yang aktif per jumlah makrofag seluruhnya dikalikan 100% .

Tabel 1. Tabel hasil prosentase makrofag yang memfagositosis latex

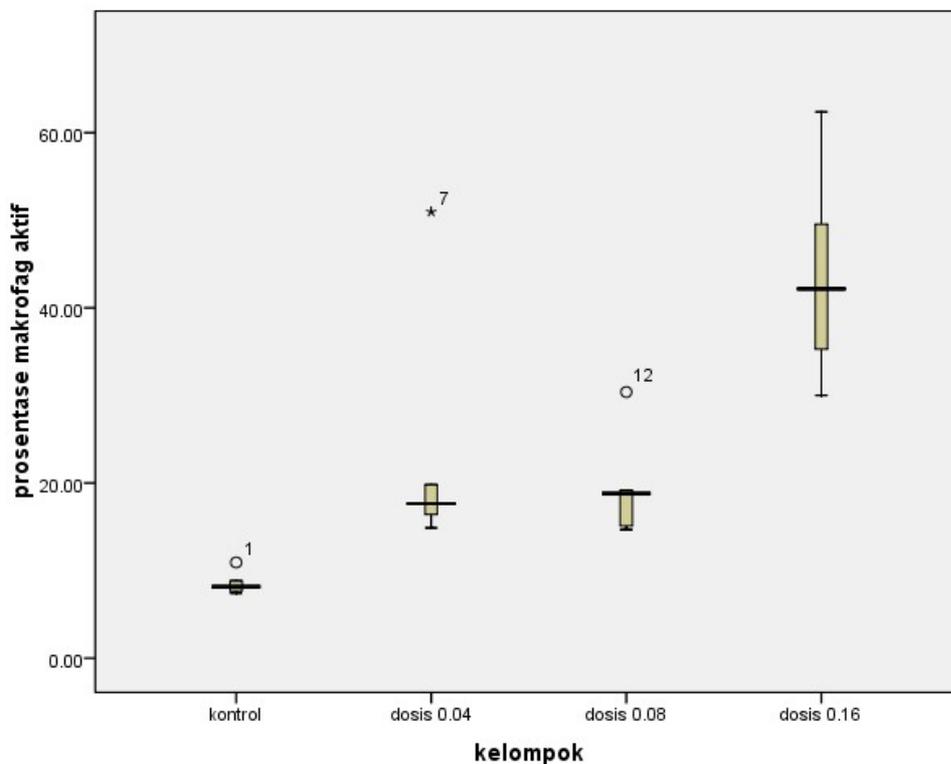
Sampel		Fagosit	Σ makrofag	Prosentase
Kontrol	1	13	119	10,9
	2	8	104	7,7
	3	9	110	8,2
	4	14	189	7,4
	5	11	125	8,8
Perlakuan 1	1	20	101	19,8
	2	53	104	50,9
	3	15	101	14,9
	4	18	102	17,7
	5	21	128	16,4
Perlakuan 2	1	16	106	15,1
	2	31	102	30,4
	3	16	109	14,7
	4	19	101	18,8
	5	23	120	19,2
Perlakuan 3	1	63	101	62,4
	2	30	100	30,0
	3	43	102	42,2
	4	56	113	49,6
	5	36	102	35,3

Dengan mengamati preparat penelitian, lalu dilakukan analisis deskriptif maka didapatkan data sebagai berikut :

Tabel 2. Tabel uji deskriptif prosentase makrofag yang memfagositosis latex

Sample	Mean \pm Std.deviation	Median
Control	8,60 \pm 1,40	8,18
P 1	23,94 \pm 1,52	17,65
P 2	19,63 \pm 6,35	18,82
P 3	43,88 \pm 1,26	42,16

Tabel di atas menunjukkan nilai mean prosentase makrofag tiap kelompok, didapatkan nilai *mean* kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Nilai *mean* tertinggi terdapat pada perlakuan 3 adalah 43,88.



Gambar Boxplot prosentase makrofag yang memfagositosis latex

Gambar boxplot diatas terlihat kelompok dosis 0,04 dan 0,08 garis median tidak terletak di tengah kotak, terdapat data outlier dan nilai ekstrem. Menurut data yang ditampilkan boxplot, kemungkinan besar distribusi data tidak normal.

Selanjutnya data diuji normalitasnya dengan uji *Saphiro-Wilk*, pada kelompok kontrol ($p=0,235$), perlakuan 1 ($p=0,004$), perlakuan 2 ($p=0,92$), dan perlakuan 3 ($p=0,862$). Karena pada perlakuan 1 nilai $p < 0,05$, maka didapatkan kesimpulan bahwa distribusi data tidak normal. Kemudian data dianalisis dengan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis*. Didapatkan perbedaan yang signifikan dari rata-rata ranking antar kelompok kontrol dan perlakuan. Hal ini terlihat dari nilai $p_{0,003} < 0,05$. Oleh karena itu minimal terdapat perbedaan bermakna antar kelompok yang diuji. Perbedaan itu akan dibuktikan dengan uji *Mann-Whitney*.

Tabel 3. Tabel uji *Mann-whitney*

Kelompok	Sig.
Kontrol - P 1	0,009
Kontrol - P 2	0,009
Kontrol - P 3	0,009
P 1 - P 2	0,754
P 1 - P 3	0,076
P 2 - P 3	0,016

Tabel diatas adalah nilai p antar kelompok dengan uji *Mann-Whitney*. Jika didapatkan nilai $p < 0,05$ pada perbandingan antara satu kelompok dengan kelompok lainnya, maka terdapat perbedaan bermakna antar kelompok tersebut. Hasil tidak berbeda bermakna terjadi pada uji antara kelompok P1-P2 dan P1-P3.

PEMBAHASAN

Berdasar penghitungan sel makrofag binatang coba, dilakukan uji statistik. Diperoleh skor *mean* tertinggi pada kelompok perlakuan 3. Kelompok perlakuan 3 adalah mencit yang diberi Simunox dengan dosis paling tinggi 0,16 ml. Hal ini sesuai dengan hipotesis yang menyebutkan bahwa Simunox mampu meningkatkan jumlah makrofag yang aktif dan memakan latex beads.

Kelompok perlakuan 1,2,3 dibandingkan dengan kontrol mengalami kenaikan prosentase makrofag aktif yang berbeda bermakna. Hal ini membuktikan bahwa komponen aktif dalam Simunox mampu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Pada penelitian sebelumnya oleh Dharmana E, Susilaningsih N, bahan-bahan herbal Tolak Angin Cair yang terkandung juga dalam Simunox telah terbukti meningkatkan jumlah makrofag aktif dibandingkan dengan kontrol yang tidak diberi Tolak Angin Cair. Penelitian tersebut juga membuktikan bahwa Tolak Angin Cair secara signifikan dapat meningkatkan jumlah sel T perifer. Jika sel T meningkat, produksi IFN γ akan meningkat. IFN γ merupakan *Macrophage Activating Cytokines* yang utama untuk memacu fagositosis makrofag.³

Sebagian besar bahan herbal yang terkandung dalam Simunox mempunyai efek bakterisidal dan memberikan pengaruh langsung terhadap sistem imun, antara lain kayu manis, minyak cengkeh, kedawung, daun pegagan, gingseng, dan meniran. Kayu manis diketahui bersifat antiviral, antifungal, dan antibakterial terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.⁶ Minyak cengkeh dapat menghambat pertumbuhan *Aspergillus sp.*⁷ Kedawung mempunyai antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Shigella dysenteriae*.⁸ Ekstrak daun pegagan mempunyai daya antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.⁹ Panas radix (gingseng) dikenal mempunyai efek antivirus dengan cara mengaktivasi IFN γ dan sel NK.¹⁰

Meniran telah dibuktikan sebagai imunostimulan.² Penelitian yang dilakukan oleh Ma'at Suprpto, peneliti laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, meniran atau *Phyllanthi herba* telah terbukti meningkatkan imun tubuh dengan merangsang sistem imun nonspesifik dan spesifik. Hal ini disebabkan flavonoid, kandungan kimia yang terdapat dalam

meniran mampu mengirimkan sinyal intraseluler pada reseptor sel sehingga sel berfungsi optimal, termasuk makrofag sebagai sel fagosit.¹¹

Penelitian lain tentang meniran, oleh Lestarini IA, dalam tesis yang berjudul “Pengaruh Pemberian *Phyllanthus niruri* L terhadap Respon Imunitas Seluler Mencit Balb/c yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium*”. Membuktikan bahwa *Phyllanthus niruri* L meningkatkan jumlah limfosit teraktivasi dan meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag secara bermakna.¹²

Kelompok perlakuan 2 dibandingkan perlakuan 3 mengalami peningkatan yang secara statistik berbeda bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa jika dosis Simunox dinaikkan, terbukti dapat meningkatkan jumlah makrofag yang aktif dan memfagosit latex. Kelompok perlakuan 1 dibandingkan kelompok perlakuan 3 juga mengalami kenaikan jumlah makrofag aktif, namun kenaikan ini tidak bermakna.

Prosentase makrofag aktif pada perlakuan 1 yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan 2, kemungkinan disebabkan salah satu mencit dalam kelompok perlakuan 1 terinfeksi sehingga makrofag menjadi lebih teraktivasi. Hal ini dapat dibuktikan dengan ditemukannya koloni bakteri di salah satu preparat kelompok perlakuan 1. Makrofag dapat diaktivasi oleh berbagai macam stimulan atau aktivator, antara lain mikroba dan produknya, kompleks antigen antibodi, inflamasi, limfosit T tersensitasi, sitokin dan trauma.¹³

Berdasarkan penyajian data dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa penelitian ini sesuai dengan hipotesis, pemberian Simunox pada mencit Swiss mampu meningkatkan fungsi fagositosis makrofag dibandingkan kelompok kontrol.

Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui keunggulan Simunox sebagai imunostimulan, membandingkan kemampuan fungsi fagositosis makrofagnya dengan produk atau bahan lain yang telah terbukti sebagai imunostimulan kuat. Penelitian mengenai uji toksisitas Simunox juga perlu dilakukan, terhadap organ tubuh termasuk fungsi ginjal dan hepar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Baratawidjaya KG. *Imunologi Dasar*. 7th ed . Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2006.
2. Kardian A. Kusuma FR. *Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami*. Jakarta: Agromedia Pustaka; 2004.
3. 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.
4. Lewis JG. Isolation of Alveolar Macrophages, Peritoneal Macrophages, and Kupffer cells. In : *Methods in Immunotoxicology vol 2*. New York: A John Wilye Liss & sons Inc Publ, 1995; 15-26.
5. Neldon DL, Lange RW, Rosenthal GJ, Comment CE, Burlison R. Macrophage Nonspecific Phagocytosis Assays. In : *Methods in Immunotoxicology vol 2*. New York : A John Wilye Liss & sons Inc Publ, 1995; 39-57.
6. Ipteknet. *Tanaman Obat Indonesia* [homepage on the internet]. c2010 [cited 2010 Jan 30]. Available from : www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php

7. Ultee A, Gorris LGM, Smid EJ. Bacterial activity of carvacrol toward the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. J. Appl. Microbiol,1998;213-218.
8. Zuhud EAM, Winiati PR, C.Hanny W, Pipi PS. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kedawung terhadap Bakteri Patogen. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan [serial on the Internet].2001 [cited 2010 Jan 30]. Available from:

http://www.iptek.net.id/ind/pustaka_pangan/pdf/Jurnal_PATPI/vol_XII_no_1_2001/PDF
9. Herbal Daun Pegagan : Hasil Penelitian Laboratorium.c2009 [cited 2010 Jan 30]. Available from :

<http://herbaljawa.blogspot.com/2009/07/hasil-penelitian-laboratorium.html>
10. Invista [cited 2010] . Available from:

<http://www.innvista.com/health/herbs/ginseng.htm>
11. Meniran Tanaman Pemacu Kekebalan Tubuh [cited 2009 May 14]. Available from :

<http://www.Stimuno.com>
12. Lestarini IA. Pengaruh Pemberian *Phyllanthus niruri L* terhadap Respon Imunitas Seluler Mencit *Balb/c* yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*. Semarang : Pasca Sarjana Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro ; 2008.
13. Jawetz, Melnick, Adelberg's. Mikrobiologi Kedokteran. 22nd ed. Jakarta : Salemba medika ; 2005.