



**PENGARUH PEMBERIAN TOLAK ANGIN ANAK CAIR
TERHADAP INDEKS FAGOSITOSIS MAKROFAG
PADA MENCIT SWISS**

*THE EFFECT OF TOLAK ANGIN ANAK CAIR ON
MACROPHAGE'S PHAGOCYTOSIS INDEX OF SWISS MICE*

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

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

**WILLY SUTEJO
G2A 006 196**

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

PENGARUH PEMBERIAN TOLAK ANGIN ANAK CAIR TERHADAP INDEKS FAGOSITOSIS MAKROFAG PADA MENCIT SWISS

Willy Sutejo¹, Edi Dharmana²

ABSTRAK

Latar belakang: Makrofag yang merupakan sel mononuklear berperan utama sebagai fagosit dan *antigen-presenting cell* (APC) untuk inisiasi imun spesifik dapat dipacu dengan pemberian imunomodulator. Tolak Angin Anak Cair (TAAC) merupakan obat herbal terstandar pengembangan dari Tolak Angin Cair (TAC) yang diperuntukkan untuk anak dengan tambahan zat tanduk sebagai antipiretik. Pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan dapat meningkatkan sel T perifer dan Interferon-gama (IFN- γ) yang merupakan aktifator makrofag. Studi ini dirancang untuk melihat pengaruh pemberian TAAC dengan dosis bertingkat terhadap indeks fagositosis makrofag pada mencit swiss.

Metode: Penelitian eksperimental laboratorium murni dengan desain *Post Test Only Control Group Design* dengan menggunakan mencit Swiss umur 12 minggu berat 25-35 gram sebanyak 40 ekor dibagi menjadi 4 kelompok : K (tanpa pemberian TAAC), P1 (TAAC dosis 0,125ml/hari), P2 (TAAC dosis 0,25ml/hari), P3 (TAAC dosis 0,5ml/hari). Perlakuan diberikan selama 7 hari. Makrofag diisolasi langsung dari makrofag peritoneal tikus. Analisa data dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* dan uji *Mann-Whitney*.

Hasil: Pemberian TAAC meningkatkan indeks fagositosis makrofag pada kelompok perlakuan secara bermakna dibandingkan dengan kelompok mencit dengan pemberian aquades ($p=0,004$). Pada akhir studi didapatkan bahwa pemberian dosis TAAC yang memberikan hasil signifikan adalah pada kelompok P2 (0,25ml/hari). Perbandingan antar kelompok perlakuan menunjukkan tidak adanya perbedaan hasil yang signifikan, kecuali pada kelompok P2 dan P3.

Kesimpulan: Pemberian TAAC terbukti dapat meningkatkan indeks fagositosis makrofag secara bermakna. Peningkatan indeks fagositosis makrofag tidak berjalan linear dengan peningkatan dosis; dengan dosis optimal 0,25ml/hari.

Kata kunci: fagositosis makrofag, imunomodulator, Tolak Angin Anak Cair

¹ Mahasiswa program pendidikan S-1 Kedokteran Umum Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

² Staf pengajar Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Jl. Dr. Sutomo No 18 Semarang

**THE EFFECT OF TOLAK ANGIN ANAK CAIR ON
MACROPHAGE'S PHAGOCYTOSIS INDEX OF SWISS MICE**

ABSTRACT

Background: Mononuclear cell macrophage plays an important role as phagocyte and antigen-presenting cell (APC) for a specific immune system initiation that can be improved by the treatment of immunomodulator. Tolak Angin Anak Cair (TAAC), usually targeted for children, is a standardized herbal drug developed from Tolak Angin Cair (TAC) with an addition of buffalo-horn extract as antipyretic. TAC has been proven to improve peripheral T cell and Interferon-gama (IFN- γ) as the activator of macrophage. This study was designed to observe how the macrophage's phagocytosis index on Swiss mice can be affected by an increasing dosage of TAAC.

Method: Pure experimental study laboratory with Post Test Only Control Group Design was performed. Forty Swiss mice weighing 25-35 grams of 12-week old were equally divided into four groups: K (no TAAC administration), P1 (TAAC 0.125ml/day), P2 (TAAC 0.25ml/day), and P3 (TAAC 0.5ml/day). Interventions were given for seven days. Macrophages were isolated directly from peritoneal's macrophages of mice. The data were then analyzed by Kruskal-Wallis and Mann Whitney tests.

Result: Groups treated with TAAC showed a significant increased of macrophage's phagocytosis index compared to control group ($p=0.004$). The treatment of TAAC that gave significant result was P2 group (0.25ml/day). Comparison between the treatment groups did not show any significant difference, except between P2 and P3 groups.

Conclusion: Administration of TAAC has been proven to show a significant increased effect on macrophage's phagocytosis index. However, the macrophage's phagocytosis index was not directly proportional to the increasing treatment of TAAC; the optimum dosage was reached at 0.25ml/day.

Key word: macrophages's phagocytosis, immunomodulator, Tolak Angin Anak Cair

PENDAHULUAN

Berkembangnya pengetahuan mengenai bagaimana sel berkomunikasi (berinteraksi) memungkinkan kita untuk mengembangkan cara memanipulasi jalur komunikasi sistem imun tubuh kita.¹ Salah satu komponen utama dari sistem imun tubuh adalah makrofag, yang berperan baik pada sistem *innate immunity* maupun *adaptive immunity*.^{2,3} Makrofag merupakan setiap bentuk fagosit mononuklear yang ditemukan dalam jaringan.⁴ Dalam melakukan fungsi fagositnya, makrofag dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti Interferon- γ (IFN- γ).⁵

Saat ini kita mengenal berbagai bahan yang diklaim dapat meningkatkan daya tahan tubuh terhadap penyakit yang disebut sebagai imunomodulator, yang terutama berupa obat-obatan tradisional, termasuk jamu dan obat herbal terstandar. Secara klinis imunomodulator digunakan pada pasien dengan gangguan imunitas, antara lain pada kasus keganasan, HIV/AIDS, malnutrisi, alergi, dan lain-lain.¹

Salah satu produk obat herbal terstandar yang akrab dan banyak digunakan oleh masyarakat adalah Tolak Angin Cair (TAC) yang pada penelitian tahun 2007 sudah terbukti dapat meningkatkan jumlah sel T perifer dan IFN- γ .⁶ IFN- γ merupakan sitokin poten untuk peningkatan aktivasi makrofag. Fagositosis makrofag yang efektif pada invasi kuman dini akan dapat mencegah timbulnya infeksi.⁷

Efek tersebut diduga diperantarai oleh kandungan bahan-bahan herbal yang terkandung di dalam TAC yang digunakan sebagai imunostimulator antara lain *Amomi fructus*, *Burmanni cortex*, *Caryophylli folium*, *Menthae arvensitis Herba*, *Usnea thallus* dan *Zingiberis rhizoma*. Bahan-bahan tersebut dipercaya memiliki berbagai khasiat yang menguntungkan bagi kesehatan. Ekstrak *Menthae arvensitis Herba* dinyatakan memiliki efek stimulasi sistem imun, antispasmodik, karminatif, antiemetika, antipiretik dan stomakik, *Zingiberis rhizoma* dipercaya memiliki efek antiinflamasi, antiemetik dan karminatif, *Caryophylli folium* dipercaya memiliki efek antibakterial, antiviral, antiemetik, tonik, stomakik dan karminatif.^{8,9,10}

Pengguna dari obat-obatan herbal tidak hanya orang dewasa, namun juga anak-anak. Salah satu produk obat herbal terstandar untuk anak-anak yang beredar di masyarakat adalah Tolak Angin Anak Cair (TAAC) yang juga diklaim memiliki efek imunostimulator seperti pada TAC untuk dewasa karena memiliki komponen penyusun herbal yang sama dalam kadar yang disesuaikan, dengan tambahan tanduk sebagai antipiretik.⁹

Penelitian ditujukan untuk menganalisis pengaruh pemberian Tolak Angin Anak Cair terhadap respon imun mencit Swiss yang diukur dengan parameter indeks fagositosis makrofag dan melihat apakah terjadi peningkatan indeks fagositosis makrofag seiring dengan pemberian dosis bertingkat. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan bahan informasi mengenai TAAC yang dapat digunakan sebagai imunomodulator pada anak serta dapat membantu peningkatan pemanfaatan obat tradisional Indonesia.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Drug Screening Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro selama bulan Maret sampai dengan bulan April 2009. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium murni dan desain penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design* yang menggunakan hewan percobaan sebagai subjek penelitian. Populasi penelitian ini adalah mencit Swiss jantan dan betina yang berumur 12 minggu dengan berat 25-35 gram yang dikembangkan di laboratorium UPHP UGM Yogyakarta. Penentuan besar sampel ditentukan sesuai ketentuan WHO, yakni jumlah sampel minimal 5 ekor tikus tiap kelompok yang diambil secara acak.¹³ Sampel dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan dengan jumlah sampel 10 ekor tiap kelompok yang terdiri dari 5 mencit swiss jantan dan 5 mencit swiss betina.

Kelompok kontrol (K) adalah kelompok mencit yang diberi air melalui sonde lambung peroral, kelompok perlakuan pertama (P1) adalah kelompok mencit yang diberi Tolak Angin Anak Cair dengan dosis 0,125 ml, kelompok perlakuan dua (P2) adalah kelompok mencit yang diberi Tolak Angin Anak Cair dengan dosis 0,25 ml, dan kelompok perlakuan tiga (P3) adalah kelompok mencit yang diberi Tolak Angin Anak Cair dengan dosis 0,5 ml. Sampel diambil dengan metode *simple random sampling* dan masing-masing kelompok diadaptasikan dahulu selama satu minggu dan diberikan pakan dan minum standar.

Setelah diberi perlakuan selama satu minggu, pada hari ke tujuh dilakukan terminasi mencit, dan dilakukan isolasi makrofag peritoneal dan selanjutnya dilakukan penghitungan indeks fagositosis makrofag. Isolasi makrofag peritoneal mencit dilakukan dengan metode yang telah dimodifikasi oleh Lewis J. G., dan penghitungan indeks fagositosis makrofag menggunakan metode "Fagositosis Sel

Darah Merah Domba oleh Makrofag” yang telah dimodifikasi oleh Neldon DL, Lange RW, Rosenthal GJ, Comment CE, Burleson R.

Analisa data secara statistik dilakukan menggunakan program *SPSS 15.00 for Windows*. Uji yang digunakan adalah uji statistik non parametrik *Kruskal-Wallis*. Jika dari hasil uji statistik tersebut terdapat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok mana yang memberikan hasil yang signifikan. Ketentuan digunakan $p < 0,05$ untuk hasil yang bermakna.¹⁵

HASIL

Populasi sampel penelitian ini adalah mencit Swiss yang memenuhi kriteria inklusi, diambil dengan metode *simple random sampling* dan dikembangkan di laboratorium UPHP UGM Yogyakarta. Selama masa penelitian terdapat 5 ekor mencit yang mati (*drop out*) karena kesalahan cara pengambilan sampel.

Dengan menggunakan uji statistik deskriptif didapatkan hasil data *post-test* yang diperoleh dari keempat kelompok (K, P1, P2, P3) terdistribusi secara tidak normal berdasarkan uji normalitas *Saphiro-wilk* ($p > 0,05$), yaitu kelompok K menunjukkan $p = 0,019$ ($p < 0,05$), sehingga ukuran pemusatan data yang digunakan adalah *median* dan ukuran penyebaran yang digunakan adalah minimum-maksimum.

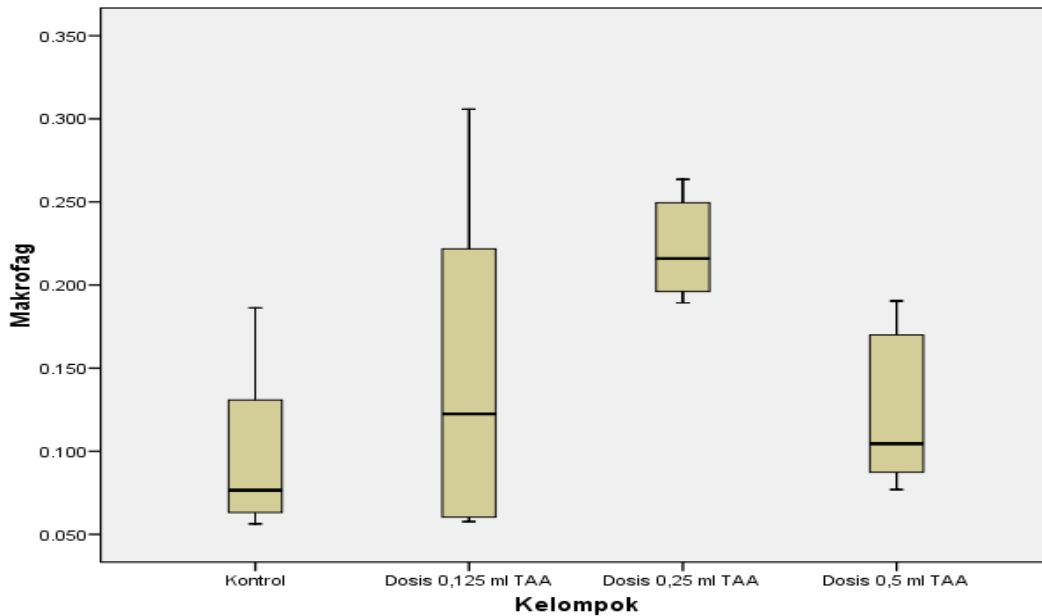
Tabel 1. Analisa deskriptif indeks fagositosis makrofag

Kelompok	Median	Minimum	Maksimum	Uji distribusi (<i>Saphiro-wilk</i>)
K	0,07656	0,56	0,186	0,019
P1	0,12251	0,58	0,306	0,068*
P2	0,21606	0,189	0,264	0,250*
P3	0,10458	0,77	0,190	0,074*

Pada analisis inferensial didapatkan hasil uji normalitas *Saphiro-Wilk* $p < 0,05$, yang berarti data terdistribusi dengan tidak normal.

Syarat selanjutnya untuk dilakukannya uji parametrik *One-way ANOVA* adalah varians data normal yang diuji dengan *Levenne test*. Dari uji *Levenne test* didapatkan nilai $p = 0,010$. Karena $p < 0,05$ maka data yang didapatkan tidak homogen. Kemudian dilakukan upaya proses transformasi data untuk mengusahakan varians data menjadi normal tetapi tetap tidak berhasil ($p < 0,05$). Oleh karena itu, digunakan uji alternatifnya, yaitu uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*.

Gambar 1. Boxplot indeks fagositosis makrofag



Pada uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai $p=0,004$. Oleh karena nilai $p<0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa paling tidak terdapat perbedaan indeks fagositosis makrofag yang bermakna. Untuk mengetahui letak perbedaannya dilakukan uji analisis *Mann-Whitney*.

Tabel 2. Hasil uji *Mann-Whitney*

Kelompok	K	P1	P2	P3
K	-	.329	.001*	.118
P1	-	-	.075	.705
P2	-	-	-	.001*
P3	-	-	-	-

Didapatkan hasil yang bermakna secara statistik pada kelompok P2 dibanding kelompok kontrol dengan $p=0,001$, dan pada P3 dibandingkan dengan kelompok P2 dengan nilai $p=0,001$. Pada perhitungan indeks fagositosis makrofag dengan pemberian TAAC (Gambar 1) menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan indeks fagositosis makrofag pada pemberian dosis 0,125ml dibanding kelompok

kontrol, meskipun secara statistik belum menunjukkan perbedaan bermakna. Perbedaan bermakna pada indeks fagositosis baru tampak pada pemberian dosis 2 sebesar 0,25ml. Pemberian dosis 3 (0,5ml) meskipun tampak adanya kecenderungan peningkatan dibanding kelompok kontrol, tetapi karena sebaran data yang lebar menyebabkan secara statistik tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok yang lain.

PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian pengaruh pemberian Tolak Angin Anak Cair terhadap indeks fagositosis yang diisolasi dari makrofag peritoneal pada mencit Swiss ini peneliti mendapatkan hasil yang signifikan pada perbandingan antara kelompok K dengan P2 dan perbandingan antara kelompok P2 dengan P3.

Pada penelitian ini didapatkan hasil yakni pertama, terdapatnya penurunan indeks fagositosis makrofag *post-test* yang signifikan terutama pada kelompok P3 (Gambar 1). Terdapat faktor yang mungkin dapat menjelaskan hal ini. Efek penurunan indeks fagositosis makrofag mungkin disebabkan oleh mekanisme TAAC sebagai imunomodulator yang akan meningkatkan respon imunitas dalam tubuh hanya sampai batas tertentu, yang apabila batas itu sudah tercapai, maka efeknya akan menurun. Hal kedua adalah rentang hasil dari pemberian TAAC dosis 1 (0,125ml/hari) yang luas, sehingga hampir menyamai rentang hasil pemberian TAAC dosis 2 (0,25ml/hari) dan sampai melebihi rentang hasil pemberian TAAC dosis 3 (0,5ml/hari).

Pada penelitian terdahulu tentang pengaruh Tolak Angin Cair Dewasa terhadap jumlah limfosit T dan kadar IFN- γ oleh Dharmana Edi *et al* (2007) membuktikan Tolak Angin Cair Dewasa dapat meningkatkan limfosit T dan IFN- γ . IFN- γ merupakan **aktivator utama makrofag** untuk memacu fagositosis, *oxydative burst* dan *intracellular killing*, yang mana akan berakibat pada peningkatan indeks fagositosis makrofag. Peningkatan pada penelitian ini dapat dimengerti karena Tolak Angin Anak Cair mengandung komponen yang sama seperti Tolak Angin Cair dengan kadar yang lebih rendah dan tambahan tanduk yang ditujukan sebagai antipiretik.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian dosis TAAC dapat meningkatkan index fagositosis makrofag secara bermakna, dengan dosis paling efektif terhadap peningkatan indeks fagositosis makrofag terdapat pada kelompok P2

dengan pemberian dosis 0,25 ml/hari, dan peningkatan pemberian dosis TAAC tidak selalu diikuti dengan peningkatan efek indeks fagositosis makrofag.

Disarankan untuk penelitian selanjutnya hendaknya dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui kadar toksik TAAC terhadap organ. Selain itu perlu dilakukan penelitian dengan induksi penyakit yang diberikan selama masa perlakuan untuk melihat efek TAAC terhadap indeks fagositosis makrofag.

UCAPAN TERIMAKASIH

Syukur peneliti panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Kuasa atas berkat-Nya laporan akhir karya tulis ilmiah ini dapat diselesaikan dengan baik. Terima kasih kepada kedua orang tua yang telah memberikan dukungan penuh pada peneliti dalam berbagai hal, khususnya dalam penyelesaian laporan akhir KTI ini.

Terima kasih peneliti haturkan kepada Prof. dr. Edi Dharmana, M.Sc, PhD, Sp.ParK sebagai pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan kritik dalam pembuatan laporan ini, dr. Diana Nurhayati, MM, Mkes, Sp.KK selaku ketua penguji proposal dan laporan akhir KTI, dr. Heny Kartikawati, M.Kes, Sp.THT-KL selaku penguji proposal penelitian dan dr. MM DEAH Hapsari, Sp.A(K) selaku penguji laporan akhir KTI. Juga peneliti haturkan terima kasih kepada PT. Sidomuncul, Klepu, Semarang yang telah memberikan dukungan pada penelitian ini melalui penyediaan saran dan prasarana. Selain itu kepada seluruh staf Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro atas bantuannya mengurus sementara hewan coba penelitian dan penggunaan laboratorium untuk penelitian ini. Terima kasih kami haturkan kepada seluruh staf Center for Biomedical Research (CEBIOR) Universitas Diponegoro. Tentu terima kasih juga kepada rekan Anthony F., Nyoman A., Narottama T.H., Devi Y. serta Aditya P. yang sudah bekerjasama dengan baik dalam mengerjakan sampai menyelesaikan penelitian ini, sehingga peneliti dapat menyelesaikan laporan ini tepat waktu. Juga pada Fransisca H., BA untuk ralat bahasa Inggris dan dukungannya.

Peneliti sangat terbuka akan kritik dan saran yang membangun akan kesempurnaan laporan akhir ini, yang didedikasikan untuk kemajuan ilmu pengetahuan bidang kedokteran, khususnya bidang imunologi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pemberian Terapi Imunomodulator. [homepage on the internet]. c2010 [updated 2004; cited 2010 Jan 16]. Available from : <http://www.yanmedik-depkes.net/>
2. Guyton & Hall. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran, Edisi-9. Jakarta : Penerbit EGC; 1997.
3. Diktat Pegangan Kuliah Patologi Klinik 1 Jilid 1. Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2008.
4. Kamus Kedokteran Dorland, Edisi-29. Jakarta : Penerbit EGC; 2006.
5. Baratawidjaja, K. G., Rengganis, Iris. Immunologi Dasar, Edisi kedelapan. Jakarta : Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2009.
6. 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: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2007.
7. Parslow T G, Stites DP, Terr A I. Imboden, J B. Medical Immunology. Tenth ed. San Fransisco: Lange Medical Book; 2003.
8. Soedibyo M. Alam Sumber Kesehatan. Manfaat dan Kegunaan. Jakarta: Balai Pustaka; 1998.
9. Sido Muncul. Komposisi dan Kegunaan Jamu Tolak Angin [homepage on the internet]. c2010 [updated 2004; cited 2010 Jan 16]. Available from : <http://sidomuncul.com/index.php>
10. Innvista. [homepage on the internet]. c2010 [updated 2007; cited 2010 Jan 16]. Available from : <http://www.innvista.com/health/herbs/>
11. Abbas, K A, Lichmant A H, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology. Sixth ed. Philadelphia: W B Saunders Company; 2007.
12. Tzianabos AO. Polysaccharide Immunomodulators as Therapeutic Agents: Structural Aspects and Biologic Function. Clin Microbiol Rev; 2000.

13. World Health Organization. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. Manila: World Health Organization Regional Office for The Western Pacific; 1993. p. 35.
14. World Health Organization. Guidelines for the regulation of herbal medicine in the south east asia region. Bangkok, 2003.
15. Dahlan MS. Seri Evidence Based Medicine 1 Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan: deskriptif, bivariat, dan multivariat dilengkapi aplikasi dengan menggunakan SPSS. Edisi 4. Jakarta: Penerbit Salemba Medika, 2009. 1-58, 83-119.