

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *Phyllanthus Niruri L* TERHADAP FUNGSI FAGOSITOSIS
MAKROFAG PADA MENCIT BALB/C YANG
DIINFEKSI *Salmonella Typhimurium***

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

Disusun untuk memenuhi tugas dan
Syarat dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana
Fakultas Kedokteran

Disusun oleh :

Galuh A. S.
NIM : G2A004069

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2008**

**THE EFFECT OF *Phyllanthus Niruri L* ON
MACROPHAGE PHAGOCYTOSIS ACTIVITY OF BALB/C MICE,
INFECTED BY *Salmonella Typhimurium***

Galuh A. S. , Banundari Rachmawati***

ABSTRAK

Background: *Phyllanthus Niruri L* was known as immunostimulan by increasing phagocytosis activity, neutrophil chemotaxis, NK (Natural Killer) cell toxicity, complement hemolysis and also increasing lymphosit T cell proliferation, Tumor Necrosis Factor- α (TNF α) and Interleukin-4 (IL-4) secretion. According to this theory, *Phyllanthus Niruri* could be used as immune booster against intracellular bacterial infection, including typhoid infection.

Objectives: To describe and analyze the effect of *Phyllanthus Niruri* on macrophage phagocytosis activity of balb/c mice, infected with *Salmonella typhimurium*.

Methods: This study was an experimental research, used post test only control group design. Population were healthy male balb/c mice with 30 samples, divided into 5 groups by simple random sampling method and named K1 (was infected with *S.typhimurium*), K2 (without any treatment), P1 (was given *P. niruri* 125 μ g/day and infected with *S. typhimurium*), P2 (was given *P. niruri* 250 μ g/day and infected with *S. typhimurium*), P3 (was given *P. niruri* 500 μ g/day and infected with *S. typhimurium*). On the 7th, mice were terminated and taken its peritoneal liquid for macrophage culture. It was continued with phagocytosis activity counting with latex beads. Processing data was used SPSS 15. Hypothetical test was one way ANOVA test.

Result: Increasing of phagocytosis index in *Phyllanthus*-treatment was resulted from this experiment with mean: P1= 2,533; P2= 2,853; P3= 2,633; K1=1,270; K2=1,647. Significant difference test had been resulted with $p = 0.000$.

Conclusion: There was significant difference between macrophage phagocytosis activity in balb/c infected *Phyllanthus* with the control groups and P2 as the group with the highest mean of phagocytosis index.

Keywords: *Phyllanthus Niruri*, macrophage phagocytosis, *Salmonella typhimurium*.

* Student of Medical Faculty of Diponegoro University, Semarang

** Lecturer staff of Clinical Pathology Department of Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang.

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *Phyllanthus Niruri L* TERHADAP FUNGSI FAGOSITOSIS MAKROFAG PADA MENCIT BALB/C YANG DIINFEKSI *Salmonella Typhimurium*

Galuh A. S.* , Banundari Rachmawati**

ABSTRAK

Latar Belakang: *Phyllanthus Niruri L* dikenal sebagai imunostimulan dengan cara meningkatkan aktivitas fagositosis, kemotaksis netrofil, toksisitas sel NK (Natural Killer), hemolisis komplemen dan juga proliferasi sel limfosit T serta peningkatan sekresi *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF α) dan Interleukin-4 (IL-4). Menurut Teori ini, *Phyllanthus Niruri* dapat digunakan pemacu imunitas dalam melawan infeksi bakteri intraselular, termasuk infeksi tifoid.

Tujuan: Mendeskripsikan dan menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *Phyllanthus Niruri L* terhadap fungsi fagositosis makrofag pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

Metode: Desain penelitian adalah penelitian experimental dengan pendekatan *post test only control group design*. Populasi adalah mencit balb/c, besar sampel 30 ekor mencit jantan sehat yang dibagi menjadi 5 kelompok dengan metode *simple random sampling* dan dinamakan K1 (diinfeksi oleh *S.typhimurium*), K2 (tanpa perlakuan), P1 (diberi P. niruri 125 μ g/hari dan diinfeksi oleh *S. typhimurium*), P2 (diberi P. niruri 250 μ g/hari dan diinfeksi oleh *S. typhimurium*), P3 (diberi P. niruri 500 μ g/hari dan diinfeksi oleh *S. typhimurium*). Pada hari ke-7, mencit diterminasi dan diambil cairan peritoneal untuk kultur makrofag. Kemudian dilanjutkan dengan penghitungan fagositosis makrofag dengan *latex beads*. Untuk pengolahan data dipakai SPSS 15. Tes yang dipakai untuk uji hipotesis adalah Anova.

Hasil: Terjadi peningkatan Indeks Fagositosis pada perlakuan dengan *Phyllanthus* dengan rerata: P1= 2,533; P2= 2,853; P3= 2,633; K1=1,270; K2=1,647. Terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok *Phyllanthus* dengan kelompok kontrol dengan $p = 0.000$

Kesimpulan: Terdapat perbedaan yang bermakna antara aktifitas fagositosis makrofag pada mencit balb/c yang diinfeksi *Phyllanthus* dengan kelompok control dengan rerata indeks fagositosis tertinggi pada P2.

Kata Kunci: *Phyllanthus Niruri*, fagositosis makrofag, *Salmonella typhimurium*.

* Mahasiswa Kedokteran Fakultas Universitas Diponegoro Semarang

** Staf Pengajar Bagian Patologi Klinik fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

LEMBAR PENGESAHAN ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

Pengaruh Pemberian Ekstrak *Phyllanthus Niruri L* Terhadap Fungsi Fagositosis
Makrofag Pada Mencit Balb/c Yang Diinfeksi *Salmonella Typhimurium*

Yang disusun oleh

Galuh A. S.

NIM : G2A004069

Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Artikel Karya Tulis Ilmiah Fakultas
Kedokteran Diponegoro Semarang pada tanggal 14 Agustus 2008 dan telah
diperbaiki sesuai saran – saran yang diberikan.

TIM PENGUJI PROPOSAL

Penguji,

Pembimbing

dr. Neni Susilaningih, MSi

dr. Banundari RH, SpPK (K)

NIP.131832243

NIP. 131803124

Ketua Penguji,

dr. Noor Wijayahadi, M. Kes, Ph.D

NIP. 132149104

PENDAHULUAN

Phyllanthus niruri L (Meniran) merupakan salah satu jenis imunostimulator yang telah teruji dapat meningkatkan sistem imun pada binatang percobaan maupun manusia.^{1,2} Sejak zaman dulu, *Phyllanthus* telah dikenal di Indonesia, ditandai dengan penggunaan *Phyllanthus* dalam berbagai jamu. Dalam penggunaan tradisional *Phyllanthus* diduga mempunyai efek diabetik, penyakit prostat, asma, demam, tumor, infeksi dan batu saluran kemih, demam tifoid, influenza, disentri, konstipasi, sakit perut, dan ulkus. Sedangkan menurut hasil penelitian, *Phyllanthus* memiliki efek anti spasmodik, hepatoprotektif, anti litik (untuk batu ureter dan empedu), penghilang rasa sakit, anti hipertensi, antiviral, antibakterial, diuretic, anti mutagenik, dan juga memiliki efek hipoglikemi.^{1,3} Tanaman ini juga banyak ditemukan di daerah tropis, termasuk Indonesia sehingga mudah ditemukan bahkan dapat ditanam sendiri sehingga dapat terjangkau oleh masyarakat luas.³

Dalam kaitannya dengan system imun, pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L dapat meningkatkan aktivitas dan fungsi beberapa komponen imunitas nonspesifik serta imunitas spesifik, baik humoral maupun selular. Hal ini dapat kita lihat dari berbagai penelitian yang menyatakan bahwa tanaman tersebut dapat meningkatkan respon imun nonspesifik berupa peningkatan fagositosis dan kemotaksis makrofag, kemotaksis neutrofil, sitotoksitas sel NK (*Natural Killer*) serta aktivitas hemolisis komplemen. Ekstrak *Phyllanthus niruri* L juga meningkatkan proliferasi sel limfosit T, meningkatkan sekresi *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF α) dan *Interleukin-4* (IL-

4), menurunkan sekresi IL-2 dan IL-10. Terhadap imunitas humoral, tanaman ini dapat meningkatkan produksi imunoglobulin M (IgM) serta IgG.⁴ Hal – hal tersebut diatas berperan dalam melawan infeksi, terutama untuk infeksi bakteri intraselular seperti *Salmonella typhii*.

Salmonella typhii merupakan bakteri gram negatif yang patogen, fakultatif, dan intraselular⁵⁻⁹ yang menyebabkan penyakit tifoid dengan gejala bervariasi mulai dari yang ringan seperti demam, malaise, dan batuk kering sampai rasa sakit pada abdomen dan berbagai komplikasi lainnya.⁸ Penyakit ini menyerang sekitar 22 juta orang per tahun dengan angka kematian mencapai 200.000 jiwa per tahun.⁹ Di Indonesia sendiri, demam tifoid masih merupakan penyakit endemik. Menurut WHO, pada tahun 2003 terdapat sekitar 900.000 kasus di Indonesia, dimana sekitar 20.000 penderitanya meninggal dunia.¹⁰

Multidrug-resistant strain Salmonella (MDR) sering sekali dijumpai bahkan jumlahnya semakin meningkat pada beberapa tahun belakangan ini. Beberapa variasi dari *Salmonella* telah menghasilkan *multidrug-resistance* sebagai bagian integral dari material genetik organisme tersebut dan dapat terus resisten setelah obat antibiotika tidak lagi digunakan.^{7,10} Sehingga *Phyllanthus* diharap dapat memberi alternatif pengobatan baru selain antibiotik terhadap pengobatan *Salmonella typhii*.

Pada tahun 2002 diungkapkan bahwa secara umum penyakit infeksi selalu dihubungkan dengan gangguan sistem imunitas.¹⁰ Oleh karena itu, dalam pengobatan penyakit infeksi dapat kita gunakan obat yang bersifat imunostimulator.

Sejauh ini belum didapatkan penelitian tentang efek *Phyllanthus* terhadap penyakit tifoid padahal secara teori tanaman ini dapat digunakan sebagai immunostimulator dalam penyakit infeksi. Berbagai permasalahan inilah yang mendorong peneliti untuk mencoba meneliti sejauh mana pengaruh pemberian *Phyllanthus niruri L* terhadap peningkatan status imun pada tifoid.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di universitas Gajah Mada Yogyakarta pada bulan Februari sampai Maret tahun 2008.

Desain Penelitian ini menggunakan metode quasi eksperimen di laboratorium dengan rancangan *the post test-only control group*. Populasi penelitian adalah 30 ekor mencit balb/c dengan kriteria inklusi mencit jantan galur murni dengan umur 8-10 minggu dan berat 20-30 gram.

Mencit diadaptasikan selama seminggu dan dibagi menjadi enam kelompok secara acak dengan metode *random simple sampling*, masing – masing terdiri dari lima ekor sesuai standar WHO.

Dosis pemberian larutan ekstrak *Phyllanthus niruri L* didasarkan pada konversi dosis manusia dewasa ke mencit menurut Laurence & Bacharach (1964) yaitu dosis manusia dikali 0,0026. Sementara itu dosis *Phyllanthus niruri L* sebagai imunomodulator pada orang dewasa adalah 3 x 50 mg/hr sehingga didapatkan dosis untuk mencit 3 x 130 µg/hr. Untuk memudahkan pengenceran maka dibuat rentang dosis yaitu 3 x 125 µg/hr, 3 x 250 µg/hr, dan 3 x 500 µg/hr pemberian dengan sonde per oral.

Tabel 1. kelompok Perlakuan

Kelompok	Ekstrak Etanol <i>Phyllanthus</i>	Infeksi <i>Salmonella typhimurium</i>
Perlakuan 1 (P1)	3 x 125 µg/hr per oral.	1 x 10 ⁵ kuman intraperitoneal
Perlakuan 2 (P2)	3 x 250 µg/hr per oral.	1 x 10 ⁵ kuman intraperitoneal
Perlakuan 3 (P3)	3 x 500 µg/hr per oral.	1 x 10 ⁵ kuman intraperitoneal
Kontrol 1 (K1)	Tidak diberi	1 x 10 ⁵ kuman intraperitoneal
Kontrol 2 (K2)	Tidak diberi	Tidak diberi

Infeksi *Salmonella typhimurium* diberikan intraperitoneal pada hari pertama sedangkan ekstrak etanol *Phyllanthus Niruri* diberikan dengan sonde pada hari ke-2 sampai hari ke-6 selama tiga kali dalam sehari, kemudian pada hari ke-7 mencit akan diterminasi untuk dilakukan pengambilan cairan intraperitoneal. Setelah itu dilakukan pemeriksaan makrofag dengan *latex beads*. Kemampuan fagositosis dihitung dari prosentase sel yang memfagosit partikel latex yang dihitung pada 200 sel dikali jumlah rata – rata partikel pada sel yang positif dan dinyatakan dalam index fagositosis¹¹.

Data primer yang didapat, ditabulasi dan dilakukan *data entry*. Status imun diukur dengan parameternya fungsi fagositosis makrofag. Kemudian dengan menggunakan SPSS 15 dilakukan uji normalitas Saphiro-Wilk karena didapatkan data yang tidak normal pada P2 maka dilakukan transformasi. Dilanjutkan dengan tes *one way Anova* untuk uji hipotesis kemudian dilanjutkan dengan tes *Post hoc bonferroni*.

PERLAKUAN HEWAN COBA

*PLN : Ekstrak ethanol *Phyllanthus Niruri L*

HASIL PENELITIAN

Tabel 2. Deskripsi rerata Indeks Fagositosis Makrofag

Kelompok	Rerata	Std. Deviasi	Minimum	Maksimum
P1	2,53	0,78	1,48	3,48
P2	2,85	0,81	2,24	4,40
P3	2,63	0,75	1,40	3,52
K1	1,27	0,29	0,88	1,76
K2	1,64	0,31	1,22	2,08
Total	2,19	0,86	0,88	4,40

Pada tabel 2 dapat dilihat bahwa rerata jumlah indeks fagositosis pada kelompok perlakuan (terutama P2) mengalami peningkatan dibanding dengan rerata jumlah indeks fagositosis pada kelompok kontrol (K1). Didapatkan adanya kenaikan indeks fagositosis pada kontrol negatif (K2) dibanding kontrol positif (K1).

Gambar 1. Box Plot Rerata Indeks fagositosis

Hasil uji Saphiro-Wilk didapatkan hasil distribusi data indeks fagositosis makrofag tidak normal pada P2 sehingga dilakukan transformasi data.

Gambar 1. Gambaran Makrofag dengan Latex Beads

Uji Hipotesis dilakukan dengan uji Anova, didapatkan hasil: $p = 0,000$; hal ini berarti hasil index fagositosis antara kelompok perlakuan dan kelompok

kontrol mempunyai perbedaan yang bermakna. Kemudian uji dilanjutkan dengan uji *Post-hoc Bonferroni*.

Tabel 3. Analisis data dengan Uji Post-hoc

	P1	P2	P3	K1
P2	1.000			
P3	1.000	1.000		
K1	0.001*	0.000*	0.001*	
K2	0.176	0.026*	0.105	0.505

* $p < 0,05$: terdapat perbedaan yang bermakna

PEMBAHASAN

Peningkatan indek fagositosis yang bermakna dari kelompok yang diberi *Phyllanthus niruri* dibanding dengan kelompok kontrol yang tidak diberikan *Phyllanthus* mungkin dikarenakan *Phyllanthus niruri L* meningkatkan sistem imun dengan cara memicu respon imun nonspesifik berupa peningkatan fagositosis dan kemotaksis makrofag, kemotaksis neutrofil, sitotoksitas sel NK serta aktivitas hemolisis komplemen sehingga dapat meningkatkan indek fagositosis makrofag.⁴

Peningkatan indek fagositosis pada kontrol negatif (K2) dibanding kontrol positif (K1) dapat disebabkan oleh *Salmonella* yang menyerang sistem imunitas dari menciit itu sendiri.

LPS dari *S. typhimurium* akan mengaktivasi *Toll-like receptor (TLR2 dan TLR4)* yang akan memulai proses fagositosis. Makrofag disini tidak hanya menyerang mikroba dan berperan sebagai *Antigen Presenting Cell (APC)*, tetapi juga memproduksi sitokin seperti *Interleukin-1 (IL-1)*, *IL-6* dan *Tumor Necrotizing Factor- α (TNF- α)*.¹¹ *Phyllanthus* akan menstimulasi imunitas tersebut

dengan cara meningkatkan fungsi dan kemotaksis fagositosis makrofag sehingga akan menaikkan indeks fagositosis makrofag.⁴

Dilihat dari uji statistik *Post hoc*, tidak didapatkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan sehingga dapat disimpulkan bahwa peningkatan bermakna rerata indeks fagositosis antara kelompok perlakuan dan kontrol tidak sejalan dengan peningkatan dosis. Pada kelompok P2 (diberikan *P.niruri* 250µg/hari dan diinjeksi *S. typhimurium*) didapatkan rerata indeks fagositosis tertinggi dengan hasil uji *Post hoc*, $p=0.000$, dimungkinkan inilah dosis yang optimal dari *P. niruri* untuk efeknya sebagai immunostimulator.

KESIMPULAN

Terdapat perbedaan bermakna dari indeks fagositosis makrofag dari kelompok yang diberi *Phyllanthus niruri* dan yang tidak diberikan, dimana pada kelompok yang diberi *Phyllanthus* indeks fagositosis makrofagnya lebih tinggi daripada yang tidak diberikan.

Indeks fagositosis kelompok P2 adalah yang paling tinggi sehingga kemungkinan dosis ini yang paling optimal untuk *Phyllanthus*.

SARAN

Penelitian lebih lanjut dengan dosis yang lebih bervariasi diharapkan dapat menyimpulkan dosis efektif pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri*. Penelitian lebih lanjut juga diperlukan untuk mengetahui waktu pemberian yang optimal.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menghaturkan banyak terimakasih pada Tuhan Yang maha Esa, atas segala berkah dan rahmat-Nya sehingga penulis bisa menyelesaikan penelitian ini dengan sebaik mungkin dan tepat pada waktunya; keluarga yang tercinta, atas segala dorongan dan bantuannya baik dari segi material maupun non- material; dr. Banundari Rachmawati, Sp. PK (K) selaku dosen pembimbing, atas bimbingan dan nasehatnya yang sangat berarti bagi peneliti; dr. Noor Wijayahadi, M. Kes, Ph.D selaku ketua penguji; dr. Neni Susilaningsih, MSI selaku dosen penguji; dr. Ima Arum Lestarini selaku pendonor dana; Laboratorium LPPT UGM beserta seluruh stafnya yang telah membantu terlaksananya penelitian ini; dan teman – teman serta semua pihak yang telah turut membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Christever. Pengaruh meniran dan jombang dalam mengurangi reaksi peradangan secara makroskopis serta menekan jumlah eosinofil dalam darah pada dermatitis. Jakarta: Badan Litbang Kesehatan; 2001.
2. Stagg J. Phyllanthus. (Online). 2006 (cited 17/06/07);(2 pages). Available from: URL: <http://www.supplementnews.org/Phyllanthus.html>.
3. Ahmed N, Aggrawal SS, Chattervedi S, Tabassum N. Hepatoprotective studies on Phyllanthus Niruri on Paracetamol Induced Liver cell Damage in Albino Mice. JK-Practitioner.2005; 12:211-2.
4. Munasir Z. Manfaat pemberian ekstrak phyllanthus niruri sebagai imunostimulator pada penyakit infeksi anak. (Online). 2002 (cited 11/09/07); (3pages). Available from: URL: <http://www.tnial.mil.id/cakrawala.php3>.

5. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Mikrobiologi kedokteran. Ed-1. Jakarta: Salemba Medika; 2005. p. 364-7.
6. Svensson M, Johansson C, Wick MJ. Salmonella typhimurium-induced cytokine production and surface molecule expression by murine macrophages typhi induced cytokine. Journal of Microbial Pathogenesis. 2001; 31:91-102
7. WHO. Background document: The diagnosis, treatment and prevention of typhoid fever. Switzerland: WHO Publication; 2003.
8. Wyant TL, Tanner MK, Sztein MB. Potent immunoregulatory effects of salmonella typhi flagella on antigenic stimulation of human peripheral blood mononuclear cells. Journal of Infection and immunity. Mar 1999; 67(3): 1338-46.
9. Parry CM. Epidemiological and clinical aspects of human typhoid fever. In: Pietro mastroeni, ed. Salmonella infection: clinical, immunological and molecular aspects. UK and New York: Cambridge University Press; 2006.
10. WHO. Drug resistant salmonella. (Online). April 2005 (cited 27/02/07);(2 pages). Available from: URL: <http://www.who.int/mediacenter/factsheets/fs139/en/print.html>.
11. Choico R, Krusbeek AM, Marguiles D, Fhaevach EM. Current protocol immunology volume 2. Medical City School: University of New York; 2001. p. 14.16. 2-3
12. Baratawidjaja KG. Imunologi dasar. Ed-7. Jakarta: FK UI; 2006. p. 309-11.12