

Pengaruh Ekstrak Metanol Akar Pasak Bumi (*Eurycoma Longifolia*, Jack.) terhadap Jumlah Splenosit Mencit Diinfeksi *Listeria monocytogenes*

The Effect of Methanol Extract of Eurycoma Longifolia, Jack. Root on The Number of Splenocytes of Mice Infected Listeria monocytogenes

Idiani Darmawati¹, Marsetyawan HNES², Sri Herwiyanti²

Bagian Histologi dan Biologi Sel, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Bagian Histologi dan Biologi Sel, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada
Email: idiani_2001@yahoo.co.id

Abstrak

Percobaan ini dirancang untuk mempelajari pengaruh ekstrak metanol akar *E. longifolia*, Jack (MEEL) pada respon imun spesifik dengan penekanan khusus pada jumlah splenocytes. Desain penelitian adalah *posttest only control group design*. Empat puluh delapan tikus betina Balb / c yang digunakan di seluruh. Empat puluh delapan tikus yang digunakan berpikir studi, dan dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok pertama sebagai kontrol hanya menerima aquadest. Kelompok II, III, dan IV diberikan 100, 200, dan 400 mg / kgBB per hari, masing-masing yang MEEL diberikan bersama 14 hari. Kemudian, pada hari-15, diinfeksi *Listeria monocytogenes*. Observasi dilakukan pada hari 0, 3, dan 10 setelah infeksi. Jumlah splenocytes layak diukur dengan MTT Assay. Data dianalisis menggunakan Anova satu jalan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol *E. longifolia*, Jack pada 200 mg / kg BB per hari sejauh 14 hari dapat meningkatkan persentase splenocytes, dan puncaknya terdeteksi pada hari-0 infeksi, pada KII 11.363% yaitu, pada hari-3 setelah infeksi di KIII, yaitu 10.433% dan pada hari-10 di KIII yaitu 8.907%. Uji Anova menunjukkan perbedaan bermakna dengan pengecualian kelompok I dengan IV, dan II dengan III dan III dengan IV. Disimpulkan ekstrak metanol *E. longifolia*, Jack. root mampu meningkatkan persentase splenocytes di Balb / c tikus yang terinfeksi dengan *L. monocytogenes*.

Kata kunci: *Eurycoma longifolia*, Jack., splenosit, mencit Balb/C, *Listeria monocytogenes*

Abstract

This experiment was designed to study the influence of methanol extract of E. longifolia, Jack (MEEL) root on spesific immune response with special emphasis on amount of splenocytes. The re-search experimental was a post test-only control group design. Forty eight female mice Balb/c were used throughout. Forty eight mice were used throught the studies, and were divided into 4 groups. First group as control received only aquadest. The group II, III, and IV were given 100, 200, and 400 mg/kgBW per day, MEEL respectively which given along 14 days. Then, on day-15, infected with Listeria monocytogenes. Observation were done on day 0, 3, and 10 after infection. The number of viable splenocytes was measured by MTT Assay. The data was analysed using one-way of Anova. The results demonstrated that methanol extract of E. longifolia, Jack at 200 mg/kg BW per days far 14 days could increase the percentage of splenocytes, and the peak was detected on day-0 infection, at KII viz 11,363%, on day-3 after infection at KIII, viz 10,433 % and on day-10 at KIII viz 8,907%. The Anova test indicated stastitcal difference with the exception of groups I with IV, and II with III and III with IV. In conclusion the methanol extract of E. longifolia, Jack. root is able to increase the percentage of splenocytes in Balb/c mice infected with L. monocytogenes.

Key words: *Eurycoma longifolia*, Jack., splenocytes, mice Balb/C, *Listeria monocytogenes*

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kekayaan alam yang sangat melimpah dari berbagai jenis tanaman. Fenomena masyarakat *back to nature* menggunakan tanaman obat untuk menjaga kesehatannya maupun untuk mengobati penyakit cenderung meningkat.^{1,2} Sejak dahulu kala, tumbuhan telah biasa dimanfaatkan sebagai obat untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit, dan kemudian diwariskan secara turun-temurun.

Khasiat tanaman obat pada tubuh melalui bermacam-macam mekanisme. Tanaman obat dapat bekerja pada sistem endokrin, kardiovaskuler, maupun sistem imun. Tanaman obat yang berperan pada sistem imun, tidak sebagai efektor yang langsung menghadapi penyebab penyakitnya, seperti antibiotik melainkan melalui pengaturan sistem imun, sehingga digolongkan sebagai imunomodulator.³

Diantara tanaman yang berkhasiat sebagai obat adalah akar pasak bumi (*E. longifolia*, Jack.) yang secara tradisional digunakan antara lain sebagai tonikum pascapartum, anti mikroba, anti hipertensi, anti inflamasi, antipiretik dan mengobati sakit perut, ulkus, malaria, disentri dan yang paling dikenal adalah sebagai obat kuat (afrodisiak).

Pasak bumi yang selama ini lebih banyak dikenal sebagai salah satu obat kuat, dalam perkembangannya manfaat yang dapat diperoleh dari pasak bumi semakin luas. Penelitian manfaat pasak bumi sebagai obat kuat seperti yang dilakukan oleh Nainggolan *et al.*, pada tahun 2005 menemukan bahwa pemberian oral ekstrak pasak bumi dengan dosis 28 mm/kg bb/hari selama 15 hari, dapat menaikkan kadar hormon testosteron dalam serum mencit. Penelitian ini membuktikan bahwa akar

pasak bumi dapat bermanfaat sebagai obat kuat (afrodisiak).⁴

Berdasarkan hasil penelitian Qamariah pada tahun 2002.⁵, pasak bumi mempunyai potensi yang besar sebagai anti malaria baik secara *in vitro* maupun *in vivo* pada mencit. Tanaman uji ini bersifat sebagai imunomodulator yang memacu sistem imun hewan uji sehingga mampu menghambat pertumbuhan parasit lebih lanjut. Selain itu, Ueda *et al.*, pada tahun 2002.⁶ dan Kuo pada tahun 2004.⁷ telah membuktikan efektivitas pasak bumi (*E. longifolia*, Jack.) sebagai anti tumor dan efektivitas ini ternyata berhubungan dengan peningkatan respon imun spesifik dan non spesifik.

Bila sistem imun terpapar oleh zat yang dianggap asing, maka ada 2 jenis respon imun yang mungkin terjadi, yaitu respon imun non spesifik yang merupakan respon imun bawaan (*innate immunity*) karena respon terjadi walaupun sebelumnya tubuh tidak pernah terpapar zat asing dan respon imun spesifik yang merupakan respon imun didapat (*acquired immunity*) terhadap antigen tertentu karena tubuh sudah pernah terpapar sebelumnya.⁸

Dalam sistem imun non spesifik, makrofag memegang peranan yang cukup penting. Induksi infeksi dengan organisme *L. monocytogenes* telah banyak dijadikan model dalam eksperimen untuk mempelajari infeksi bakteri intraseluler. Bakteri ini dapat bertahan hidup di dalam makrofag dan dapat menghindari mekanisme bakterisidal makrofag.⁹

Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pengaruh pemberian ekstrak metanol akar pasak bumi (*E. longifolia*, Jack.) terhadap persentase kenaikan jumlah splenosit mencit galur Balb/c betina yang diinfeksi *L. monocytogenes* secara *in vivo* setelah

distimulasi ekstrak metanol akar pasak bumi (*E. longifolia*, Jack.).

BAHAN DAN CARA

Bahan untuk pembuatan ekstrak metanol akar pasak bumi (*E. longifolia*, Jack.) adalah bahan simplisia akar pasak bumi (*E. longifolia*, Jack.) dan larutan metanol. Bahan untuk uji persentase kenaikan jumlah splenosit adalah sel limpa yang telah dikultur, medium tumbuh. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit galur Balb/c betina yang berumur 6-8 minggu dengan berat berkisar 20-30 gram dari laboratorium Mikrobiologi Program Antar Universitas (PAU) Bioteknologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Mencit dipelihara dalam kandang plastik berukuran 50x30x20 cm, dengan tutup strimin, tiap kandang berisi 12 ekor mencit, diberi makan pellet 529 dan minum secukupnya. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri intraseluler *L. monocytogenes* yang diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Daerah Yogyakarta.

Alat penelitian adalah timbangan analitik (Sartorius), *blender* (National), saringan kain, *rotary evaporator* (*Laboratory Equipment* Sydney), *water bath*, cawan porselen dan alat maserasi digunakan untuk pembuatan ekstrak metanol akar pasak bumi (*E. longifolia*, Jack.). Inkubator CO₂ (NUAIRE), sentrifuse, mikroplate (*Nalge Nune International*, Denmark), *microplate reader*, mikroskop cahaya, kamera, minor set, spuit injeksi 10 cc, *laminar air-flow hood*, timbangan analitik (Sartorius), alat gelas, hemositometer, digunakan untuk melakukan uji aktivitas proliferasi limfosit, *ELISA reader*, untuk membaca data aktivitas proliferasi limfosit limpa; pipet, objek gelas; alat ekstraksi yang terdiri dari

seperangkat alat *soxhlet*, *rotaevaporator*, *waterbath* dan cawan porselin.

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut: a) Determinasi akar tanaman pasak bumi (*E. longifolia*, Jack.). Akar tanaman pasak bumi yang diperoleh pada bulan Februari 2005 dideterminasi di Laboratorium Farmakognosi Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. b) Pembuatan Ekstrak Metanol *E. longifolia*, Jack. Pembuatan ekstrak metanol *E. longifolia*, Jack. dilakukan di laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi UGM. c) Penentuan Dosis. Dosis ekstrak metanol akar pasak bumi (*E. longifolia*, Jack.) yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebesar 100 mg/kg bb/hari, 200 mg/kg bb/hari, dan 400 mg/kg bb/hari yang diberikan selama 14 hari secara peroral. Dosis ini telah diuji toksisitasnya oleh Satayavivad *et al.*, pada tahun 1998,¹⁰ saat diberikan peroral pada mencit (dosis yang lazim digunakan masyarakat Kalimantan Selatan sebagai suplemen). d) Uji Respon Imun Non Spesifik. Uji respon imun non spesifik akibat pemberian ekstrak metanol akar pasak bumi (*E. longifolia*, Jack.) pada mencit galur Balb/c betina dilakukan dengan tahapan sebagai berikut: i. Pengelompokan dan Perlakuan Awal Hewan Uji. ii. Isolasi dan kultur splenosit. iii. Uji aktivitas ekstrak metanol akar pasak bumi pada kultur splenosit dengan menggunakan metode MTT Assay.

Metode MTT Assay berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium (3,4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) (MTT) menjadi formazan dalam mitokondria sel hidup. Konsentrasi formazan yang berwarna ungu dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan

berbanding lurus dengan jumlah sel hidup (Price *et al.*, dalam Anggriati, 2008). Kristal formazan berwarna ungu yang terbentuk terlarut dengan adanya penambahan isopropanol asam (100µ 0,04 N HCL dalam isopropanol) atau SDS 10% dalam HCl 0,01N. Selanjutnya dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm. Intensitas warna ungu yang terbentuk berbanding langsung dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme.¹¹

Pengolahan data hasil penelitian dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap atau *complety randomized design* (CRD) pola faktorial (perlakuan ekstrak pasak bumi x waktu pengamatan/pengukuran) dengan taraf kepercayaan 95% ($p = 0,05$). Perbedaan antar kelompok perlakuan dan waktu pengamatan/pengukuran diuji DMRT (*Duncan multiple-range test*) sehingga didapatkan kelompok perlakuan dan waktu pengamatan/pengukuran terbaik. Data ditampilkan dalam bentuk kurva hubungan dosis ekstrak tanaman dengan persentase kenaikan jumlah splenosit mencit. Uji statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah

uji analisa varian satu jalan (*One Way Anova*). Uji ANOVA dalam penelitian ini digunakan untuk menguji perbedaan secara keseluruhan rerata persentase kenaikan jumlah splenosit mencit antar berbagai kelompok dalam penelitian tak berpasangan. Pada penelitian ini analisis statistik dilakukan dengan menggunakan program komputer *SPSS versi 17,00*.

HASIL

Perbandingan rerata berat badan dan berat limpa sebelum dan sesudah perlakuan seperti terlihat pada Tabel 1, menunjukkan bahwa efek imunostimulansia ekstrak metanol pasak bumi pada mencit galur Balb/c betina sebelum infeksi, dimana ekstrak metanol pasak bumi terbukti mampu meningkatkan berat limpa hewan uji pada kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan yang mendapat 100mg/kg BB/hari ekstrak metanol pasak bumi memiliki berat limpa 2x berat limpa sebelum perlakuan, kelompok yang mendapat 200 mg/kg BB/hari ekstrak metanol pasak bumi memiliki

Tabel 1. Rerata Berat Badan dan Berat Limpa Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Kelompok Hewan Uji	Sebelum Perlakuan		Sesudah Perlakuan	
	Berat Badan (g)	Berat Limpa(mg)	Berat Badan (g)	Berat Limpa (mg)
I	24,37 ± 3,63	0,07 ± 0,01	30,72 ± 0,649	0,105 ± 0,154
II	23,79 ± 1,23	0,06 ± 0,02	30,89 ± 0,028	0,14 ± 0,752
III	25,07 ± 4,05	0,15 ± 0,31	32,35 ± 0,724	0,28 ± 0,451
IV	24,05 ± 2,34	0,06 ± 0,02	33,47 ± 1,015	0,119 ± 0,033

Keterangan: EMPB = ekstrak metanol akar pasak bumi
 KI = kelompok akuades (kontrol negatif)
 KII = kelompok dosis EMPB 100 mg/kg bb/hari
 KIII = kelompok dosis EMPB 200 mg/kg bb/hari
 KIV = kelompok dosis EMPB 400 mg/kg bb/hari

Tabel 2. Rerata Hasil Pengamatan Absorbansi pada Empat Kelompok Hewan Uji

Hari ke-	Kelompok Dosis (mg/kg bb/hari)				Blangko
	Kontrol	EMPB 100mg	EMPB 200mg	EMPB 400mg	
0	0.363 ± 0,012	0.385 ± 0,011	0.376 ± 0,019	0.376 ± 0,022	0.346
3	0.390 ± 0,008	0.407 ± 0,009	0.416 ± 0,008	0.395 ± 0,027	0.377
10	0.375 ± 0,008	0.394 ± 0,012	0.395 ± 0,018	0.382 ± 0,020	0.363

Keterangan: EMPB = ekstrak metanol akar pasak bumi

berat limpa 4x berat limpa sebelum perlakuan. Sedangkan kelompok yang mendapatkan 400 mg/kg BB/hari ekstrak metanol pasak bumi memiliki berat limpa 1,7x berat limpa sebelum perlakuan. Pengaruh ekstrak metanol akar pasak bumi terhadap jumlah splenosit mencit galur Balb/c betina yang diinfeksi *L. monocytogenes*.

Terlihat bahwa rerata absorbansi pada masing-masing kelompok hewan uji tertinggi selalu ditemukan pada hari ke-3 setelah infeksi. Hal ini menunjukkan bahwa terjadinya infeksi *L. monocytogenes* mencapai puncaknya pada hari ke-3 setelah infeksi. Sebab, tingkat absorbansi sebanding dengan tingkat infeksi *L. monocytogenes*.

Hasil perhitungan persentase kenaikan jumlah splenosit mencit galur Balb/c betina pada empat

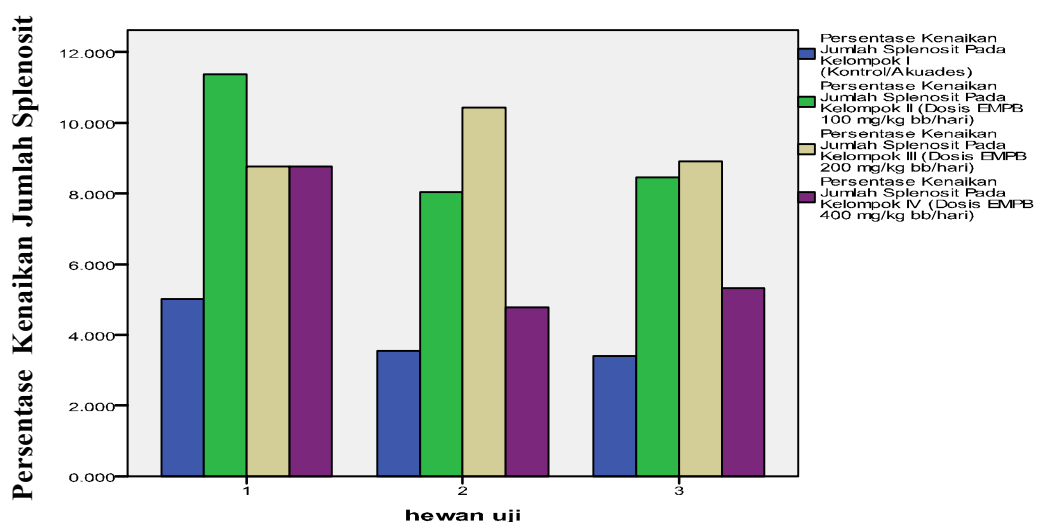
kelompok hewan uji menunjukkan bahwa persentase kenaikan jumlah splenosit tertinggi ditemukan pada KIII hari ke-3 setelah infeksi. Sedangkan pada hari ke-0 persentase kenaikan jumlah splenosit tertinggi ditemukan pada kelompok KII. Ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak metanol akar pasak bumi dengan dosis 200 mg/kg berat badan mampu menstimulasi persentase kenaikan jumlah splenosit mencit galur Balb/c bertina tertinggi pada hari ke-3 setelah infeksi, seperti yang ditunjukkan oleh Tabel 3.

Persentase kenaikan jumlah splenosit mencit galur Balb/c betina yang diinfeksi oleh *L. monocytogenes* dapat pula ditunjukkan oleh gambar 1. histogram berikut ini:

Tabel 3. Persentase Kenaikan Jumlah Splenosit pada Empat Kelompok Hewan Uji

Hari ke-	Kelompok Dosis (mg/kg bb/hari)			
	Kontrol	EMPB 100mg	EMPB 200mg	EMPB 400mg
0	5.009 ± 3,349	11.368 ± 3,089	8.767 ± 5,425	8.767 ± 6,308
3	3.537 ± 2,009	8.046 ± 2,256	10.433 ± 2,026	4.775 ± 7,122
10	3.397 ± 1,954	8.448 ± 3,332	8.907 ± 4,946	5.326 ± 5,567

Keterangan: EMPB = ekstrak metanol akar pasak bumi



Gambar 1. Histogram Persentase Kenaikan Jumlah Splenosit

Uji beda persentase kenaikan jumlah splenosit mencit galur balb/c betina berdasarkan hari pengamatan pada masing-masing kelompok pengujian. Tabel 4 berikut menunjukkan bahwa tidak ditunjukkan adanya beda nyata persentase kenaikan jumlah splenosit diantara hari pengujian pada empat kelompok hewan uji. Hal ini menunjukkan tidak adanya pengaruh hari pengujian terhadap peningkatan persentase kenaikan jumlah splenosit pada empat kelompok hewan uji.

Uji beda persentase kenaikan jumlah splenosit pada empat kelompok hewan uji berdasarkan kelompok dosis.

Tabel 5. menunjukkan bahwa secara umum terdapat perbedaan persentase kenaikan jumlah splenosit pada empat kelompok hewan uji

berdasarkan kelompok dosis, terkecuali pada pengujian KI dan KII, KIII dan KIV, serta KIII dan KIV, tidak ditemukan adanya perbedaan signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa diantara kelompok kontrol dan kelompok dosis 400 mg/kg bb tidak ada pengaruh signifikan terhadap persentase kenaikan jumlah splenosit mencit galur Balb/c betina yang diinfeksi *L. monocytogenes*. Hal yang sama juga ditemukan pada uji beda antara kelompok dosis 100 mg/kg bb/hari dan 200 mg/kg bb/hari, serta antara kelompok dosis 200 mg /kg bb/hari dan 400 mg /kg bb/hari ekstrak metanol akar pasak bumi.

Analisis deskriptif persentase kenaikan jumlah splenosit per hari pengamatan pada empat kelompok dosis.

Tabel 4. Uji Beda Persentase Kenaikan Jumlah Splenosit Berdasarkan Hari Pengamatan

Dosis	Uji Beda Antar Hari	t hitung	t a/2, n-1	Signifikansi	Keterangan
Kontrol	0 vs 3	1,028	4,303	0,412	Tidak signifikan
	0 vs 10	1,356	4,303	0,308	Tidak signifikan
	3 vs 10	0,534	4,303	0,647	Tidak signifikan
Tidak Ada Beda Nyata					
EMPB 100mg	0 vs 3	2,533	4,303	0,127	Tidak signifikan
	0 vs 10	3,116	4,303	0,089	Tidak signifikan
	3 vs 10	-0,196	4,303	0,863	Tidak signifikan
Tidak Ada Beda Nyata					
EMPB 200mg	0 vs 3	-0,391	4,303	0,733	Tidak signifikan
	0 vs 10	-0,041	4,303	0,971	Tidak signifikan
	3 vs 10	0,413	4,303	0,719	Tidak signifikan
Tidak Ada Beda Nyata					
EMPB 400mg	0 vs 3	2,928	4,303	0,100	Tidak signifikan
	0 vs 10	7,826	4,303	0,016	Tidak signifikan
	3 vs 10	-0,348	4,303	0,761	Tidak signifikan
Tidak Ada Beda Nyata					

Keterangan: signifikan jika $t_{hit} > t_{\alpha/2, n-1}$ atau $sig. < 0,05$
EMPB = ekstrak metanol akar pasak bumi

Tabel 5. Uji Beda Persentase Kenaikan Jumlah Splenosit Pada Empat Kelompok Hewan Uji Berdasarkan Kelompok Dosis

No	Uji Beda	t hitung	t a/2, n-1	Signifikansi	Keterangan
1	KI vs KII	-9,664	4,303	0,011	Signifikan
2	KI vs KIII	-5,934	4,303	0,027	Signifikan
3	KI vs KIV	-3,070	4,303	0,092	Tidak Signifikan
4	KII vs KIII	-0,056	4,303	0,960	Tidak Signifikan
5	KII vs KIV	14,761	4,303	0,005	Signifikan
6	KIII vs KIV	1,864	4,303	0,203	Tidak Signifikan

Keterangan: signifikan jika $t_{hit} > t_{\alpha/2, n-1}$ atau $sig. < 0,05$.

EMPB = ekstrak metanol akar pasak bumi
KI = kelompok akuades (kontrol negatif)
KII = kelompok dosis EMPB 100 mg/kg bb/hari
KIII = kelompok dosis EMPB 200 mg/kg bb/hari
KIV = kelompok dosis EMPB 400 mg/kg bb/hari

Tabel 6. Hasil Uji Deskriptif pada Empat Kelompok Hewan Uji

Hari ke	Dosis (mg/kg bb/hari)							
	KI		KII		KIII		KIV	
	Rerata	SD	Rerata	SD	Hari ke-	SD	Rerata	SD
0	5,009	3,349	11,368	3,089	8,767	5,425	8,767	6,308
3	3,537	2,009	8,046	2,256	10,433	2,026	4,775	7,122
10	3,397	1,954	8,448	3,332	8,907	4,946	5,326	5,567

Keterangan: EMPB = ekstrak metanol akar pasak bumi
KI = kelompok akuades (kontrol negatif)
KII = kelompok dosis EMPB 100 mg/kg bb/hari
KIII = kelompok dosis EMPB 200 mg/kg bb/hari
KIV = kelompok dosis EMPB 400 mg/kg bb/hari

Tabel 6 menunjukkan bahwa rerata persentase kenaikan jumlah splenosit mencit galur Balb/c betina tertinggi pada hari ke-0 setelah infeksi ditemukan pada kelompok hewan uji yang diberi dosis ekstrak metanol akar pasak bumi 100 mg/kgbb / hari, yaitu sebesar 11,368%. Selanjutnya, pada hari ke-3 setelah infeksi rerata persentase kenaikan jumlah splenosit tertinggi ditemukan pada kelompok dosis 200 mg/kg bb/hari, yaitu sebesar 10,433%. Demikian juga untuk hari ke-10 pengujian rerata persentase kenaikan jumlah splenosit tertinggi ditemukan pada kelompok dosis 200 mg/kg bb/hari, yaitu sebesar 8,907%. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa dosis 200 mg/kgbb/hari merupakan dosis yang paling efektif dalam meningkatkan persentase kenaikan jumlah splenosit te pada hewan uji yang diinfeksi *L. monocytogenes* karena cenderung ditemukan pada KIII, yaitu kelompok hewan uji yang diberi ekstrak metanol akar pasak bumi dengan dosis 200 mg/kg bb/hari. Oleh karena itu, dapat pula dikatakan bahwa efektivitas ekstrak metanol akar pasak bumi dalam meningkatkan jumlah splenosit mencit galur Balb/c betina yang diinfeksi oleh *L. monocytogenes* ditemukan pada dosis 200 mg/kg bb/hari.

DISKUSI

Salah satu cara untuk mengetahui respon imun dari hospes adalah dengan uji transformasi

blast. Berbeda dengan uji fagositosis makrofag dan uji sekresi ROI oleh makrofag dimana makrofag bertindak sebagai efektor maka uji proliferasi limfosit dengan parameter jumlah splenosit merupakan uji untuk mengetahui respon komponen pengatur pada sistem imun. Limfosit T apabila distimulasi oleh antigen akan mengalami aktivasi, kemudian menghasilkan limfokin dan melakukan proliferasi. Perbedaan limfokin yang sudah diketahui sebagai hasil dari aktivasi limfosit adalah IFN- γ , IL-1, sampai IL-13 dan *Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor* (GM-CSF).^{12,13} Limfokin-limfokin tersebut berperan penting pada tindak lanjut respon imun berikutnya, baik respon imun seluler maupun respon imun humoral untuk melindungi hospes.¹⁴

Limfosit yang mengalami stimulasi kemudian mengalami perubahan biokemis maupun morfologis. Secara biokemis terjadi pertambahan kecepatan metabolisme oksidatif dan sintesis protein dan RNA. Setelah 2-4 jam pasca stimulasi protein spesifik (IFN-g) diduga meregulasi proliferasi mulai terdeteksi dalam inti. Secara morfologis terjadi perubahan yang disebut transformasi *blast* dengan tanda-tanda diameter sel bertambah, kromatin menjadi longgar dan terpulas pucat. Dalam waktu 8-12 jam perubahan ini sudah dapat dilihat dengan mikroskop cahaya sebagai limfoblas.¹³ Dengan demikian transformasi *blast* dapat dipakai sebagai pe-

nanda bahwa limfosit terpacu oleh nitrogen atau antigen.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa besarnya persentase kenaikan jumlah splenosit pada masing-masing kelompok hewan uji ternyata sejalan dengan kadar ekstrak metanol akar pasak bumi yang diberikan pada kelompok hewan uji. Ini menunjukkan bahwa semakin tinggi EMPB yang diberikan pada hewan uji, maka stimulasi terhadap persentase kenaikan jumlah splenosit juga semakin meningkat setelah hewan uji diinfeksi dengan *L. monocytogenes*. Namun persentase kenaikan jumlah splenosit hanya terbatas pada kadar EMPB 200mg/kg bb/hari, sedangkan pada dosis EMPB 400mg/kg bb/hari, persentase kenaikan jumlah splenosit kembali mengalami penurunan. Pada penelitian ini persentase kenaikan jumlah splenosit tertinggi ditemukan pada kelompok hewan uji yang diberi EMPB 200 mg/kg bb/hari pada hari ke-3 setelah infeksi. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Khasanah pada tahun 2005.¹⁵ yang menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas fagositosis makrofag tertinggi ditemukan pada kelompok hewan uji KIII (kelompok dosis 200 mg/kg BB/hari) pada hari ke-3 setelah infeksi.

Hasil penelitian ini semakin memperkuat hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa EMPB mampu berfungsi sebagai imunomodulator terhadap infeksi *L. monocytogenes* berdasarkan terjadinya peningkatan persentase jumlah splenosit. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa pada tahap awal setelah infeksi *L. monocytogenes*, semua kelompok menunjukkan persentase jumlah splenosit yang semakin meningkat dan mencapai puncak pada hari ke-3 setelah infeksi dan kemudian menurun pada pengamatan hari ke-10 setelah

infeksi. Hal ini menunjukkan bahwa *L. monocytogenes* merupakan immonugen yang mampu membangkitkan respon imun seluler alamiah hewan uji.¹⁰

Persentase kenaikan jumlah splenosit pada semua kelompok perlakuan setelah mengalami peningkatan sampai puncak tertentu, kemudian akan mengalami penurunan. Hal ini kemungkinan disebabkan umur sel limpa yang semakin tua sehingga kemampuan proliferasinya berkurang, kemudian sel limpa menjadi tidak aktif dan akhirnya akan mengalami apoptosis. Kemungkinan lain adalah berhubungan dengan infeksi *L. monocytogenes* yang dapat merangsang produksi IFN- γ sehingga sangat mungkin jika peningkatan dan penurunan persentase jumlah splenosit pada penelitian ini antara lain disebabkan oleh peningkatan dan penurunan kadar IFN- γ . Hal ini serupa dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Triyono dalam Akrom pada tahun 2004,¹⁶ yang menunjukkan bahwa aktivitas makrofag sebagai salah satu parameter lain dari respon imunomodulator untuk memfagositosis partikel lateks secara *in vitro* pada mencit yang diinfeksi dengan *P. berghei* akan meningkat sampai pada puncak tertentu yang kemudian mengalami penurunan. Penelitian tersebut juga memperlihatkan bahwa gambaran aktivitas makrofag yang terjadi adalah sejalan dengan gambaran kadar IFN- γ serum, yaitu pada saat tercapainya puncak aktivitas makrofag ternyata juga terjadi puncak kenaikan kadar IFN- γ serum dan pada saat kadar IFN- γ turun maka aktivitas makrofag juga mengalami penurunan.¹⁶ Hasil penelitian ini semakin membuktikan bahwa ekstrak metanol akar pasak bumi mampu berfungsi sebagai imunomodulator pada mencit galur balb/c betina yang diinfeksi

L. monocytogenes dengan parameter persentase kenaikan jumlah splenosit.

Peningkatan sampai puncak tertentu dan setelah itu akan mengalami penurunan kembali. Dari sini terlihat bahwa persentase kenaikan jumlah splenosit pada hewan uji hanya bersifat sementara. Akibat persentase kenaikan jumlah splenosit yang bersifat sementara tersebut, produksi limfokin tidak bisa optimal, sehingga pengaruhnya terhadap aktivitas sel-sel efektor juga bersifat sementara.⁸

Hasil penelitian ini juga mendukung penelitian yang telah dilakukan oleh Akrom pada tahun 2004,¹⁶ yang menemukan bahwa modifikasi respon imun spesifik seluler akibat pemberian ekstrak etanol *P. niruri*, diantaranya adalah peningkatan proliferasi limfosit T, sehingga produk limfokin mengalami peningkatan dalam mengeliminasi mikroba. Akrom pada tahun 2004.¹⁶ didalam penelitiannya dijelaskan bahwa uji aktivitas proliferasi limfosit merupakan uji untuk mengetahui respon komponen pengatur pada sistem imun. Limfosit T apabila distimulasi oleh antigen akan mengalami aktivasi, kemudian menghasilkan limfokin dan melakukan proliferasi. Berbagai limfokin yang sudah diketahui sebagai hasil dari aktivasi limfosit adalah IFN γ , IL-1, sampai IL-13 dan *Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor* (GM-CSF).¹² Limfokin-limfokin tersebut berperan penting pada tindak lanjut respon imun berikutnya, baik respon imun seluler maupun respon imun humoral untuk melindungi hospes.¹⁴ Semakin tinggi aktivitas proliferasi limfosit semakin banyak produk limfokin yang dihasilkan. Berdasarkan hasil pengamatan di atas, menunjukkan bahwa EMPB memiliki efek stimulasi pada aktivitas proliferasi limfosit sehingga juga meningkatkan persentase jumlah splenosit. Hasil

penelitian menunjukkan bahwa dosis 200 mg/kg bb/hari EMPB memiliki efek stimulasi optimal dalam meningkatkan persentase jumlah splenosit mencit galur Balb/c betina pada hari ke-3 setelah infeksi. Adapun persamaan antara *P. niruri* dan pasak bumi adalah keduanya sama-sama mempunyai kandungan senyawa kimia alkaloid, yang diduga memiliki efek sebagai imunostimulansia.¹⁷

SIMPULAN

Ekstrak metanol akar pasak bumi (*E. longifolia*, Jack.) mampu menstimulasi kenaikan persentase jumlah splenosit mencit galur Balb/c betina yang diinfeksi *L. monocytogenes*.

Ucapan Terima Kasih

Dengan selesainya penelitian ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Drs M. Ghufron, M.S., Prof. Dr. Drs. Mustofa, Apt., M.Kes., dan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soemantri. Pengalaman Pengembangan Fitofarmaka Tumbuhan Obat di PT. (PERSERO) Kimia Farma. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, 1993;2(2): 15.
2. Ma'at S. *Pengujian Bioaktivitas Tanaman Obat sebagai Anti Kanker*. Program Pascasarjana Surabaya: UNAIR; 1999:86.
3. Subowo. Efek Imunomodulator dari Tumbuhan Obat. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*. 1996; 3(1): 1-4.
4. Olwin N. dan Simanjatak JW. Pengaruh Ekstrak Etanol Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack.) terhadap Perilaku Seksual Mencit Putih. *Cermin Dunia Kedokteran*; 2005;146: 55-57.

5. Qamariah N. Aktivitas Antiplasmodial *In Vitro* Ekstrak Air *Eurycoma longifolia*, Jack, *Tinospora tuberculata*, Beumee, *Swietenia mahagoni*, Jacq dan *Azadirachta indica*, A. Juss. [Unpublished Thesis]. Yogyakarta: Program Pascasarjana, UGM; 2002.
6. Ueda J, Tezuka Y, Banskota AH, Tran Q, Harimaya Y, Saiki I, *et al.* Antiproliferative Activity of Vietnamese Medicine Plants. *Biol Pharm Bull.* 2002;25(6):753-60.
7. Kuo PC. Cytotoxic and Antimalarial Constituents from the Root of *Eurycoma longifolia*, Jack. *J. Bioorg Med Chem.* 2004;12 (3): 537-44.
8. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Immunity to Tumors*. In: *Cellular and Molecular Immunology*, Edited by Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. 4th ed. Philadelphia WB Saunders Co. 2000; p. 382-403.
9. Satayavivad J, Soonthornchareonnon N, Somanabandhu A, Thebtaranonth Y. Toxicological and Antimalarial Activity of *Eurycomalactone* and *Eurycoma longifolia*, Jack. Extract in Mice. *Thai J. Phytopharmacy.* 1998 Dec; 5(2):14-27.
10. Pudjonarko D, Susilaningsih N, dan Sukmaningtyas H. Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Kaya Omega-3 dan Vaksinasi BCG terhadap Daya Bunuh Makrofag (Studi Experimental pada Mencit Tua Balb/c Tua). *Media Med Indonesiana.* 2004;39(1):11-7.
11. Angriati P. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukus (*Piper cubeba*, L.) terhadap Sel Hela. [Unpublished Thesis], Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2008; p 22.
12. Supargiyono. Proteksi terhadap Infeksi Malaria yang Fatal pada Mencit dengan Vaksin Malaria Stadium Darah. *BIK Jil.* XXVI. 1994(3); 125-136.
13. Wijayanti MA. Peranan Makrofag dalam Imunitas terhadap Infeksi Malaria: Kajian Kemampuan Fagositosis dan Sekresi *Reactive Oxygen Intermediates* Makrofag Peritoneum Mencit yang Diimunisasi dan Tidak Diimunisasi *In Vitro*. [Unpublished Thesis], Yogyakarta: Program Pascasarjana, UGM; 1996.
14. Angulo I, Fresno M. Cytokinesis in the Pathogenesis of and Protection Against Malaria, Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 2002;(9)1145-1152.
15. Khasanah N. Pengaruh Pemberian Ekstrak Metanol Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack.) pada Respon Imun Seluler terhadap Infeksi *Listeria monocytogenes*: Kajian Aktivitas Fagositosis dan Sekresi Nitric Oxide (NO) Makrofag Peritoneal Mencit [unpublished thesis]. Pascasarjana Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada; 2005.
16. Akrom. Pengaruh Pemberian Ekastrak Metanol Herba Meniran (*P. niruri*) terhadap Respon Imun Seluler Mencit yang Diinfeksi oleh *P. berghei* : Studi Imunomodulator Fitokimia. [unpublished thesis], Yogyakarta: Program Pascasarjana, UGM; 2004; pp. 19-35.
17. Mursito B.. *Membuat Sediaan Obat Tradisional*. Dalam : *Ramuan Medisional untuk Kesehatan Anak*. Jakarta: PT Penerbit Penebar Swadaya anggota IKAPI. 2002; 4-6.