

Indeks Daya Fagosit Makrofag Peritoneum setelah Pemberian Propolis pada Mencit (*Mus musculus*)

*Phagocytic Index of Peritoneal Macrophages after Propolis Supplementation in Mice (*Mus musculus*)*

Siti Eva Mustafiah¹, Dina Fatmawati^{2*}, Iwang Yusuf²

ABSTRACT

Background: Various diseases depend on individual's immunity. Many of which nowadays have not had the effective and formal therapy that makes experts researches the best and the most effective way for it; the use of Propolis as immunomodulator is one of them. This research aims for knowing the effect of propolis towards peritoneal macrophage phagocytic index on mice.

Design and Method: This research is an experiment with post test study design randomized control group design. This study used mice that were divided into four groups randomly. The first group / Group-I were for negative control (standard feed and aquadest); The second group/Group-II were fed standard-feed, aquadest, and propolis at a dose of 1.25 mg/kgBM; the third group/group-III were fed standard-feed, water, and propolis at a dose of 2.5 mg/KgBM; The fourth group/Group-IV were fed standard feed, water, and propolis at a dose of 5 mg/KgBM. Treatment where conducted for 3 days.

Result: The average macrophage phagocytic index, were at the highest level of it (7.82 1.63) while the lowest one were the first group 3.43 0.13. The Kruskall Wallis result stated that there is index difference among various groups with $p < 0.002$ ($p < 0.05$).

Conclusion: Propolis effected on mice peritoneal macrophage phagocytosis index (Sains Medika, 3(2):121-128).

Key word: propolis, phagocytic index of peritoneal mice macrophages

ABSTRAK

Pendahuluan: Berbagai macam penyakit sangat bergantung pada sistem imun individu yang sampai saat ini belum ditemukan terapi baku yang efektif, sehingga dilakukan berbagai cara salah satunya dengan penggunaan propolis sebagai imunomodulator. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh propolis terhadap indeks daya fagosit makrofag peritoneum mencit (*Mus musculus*).

Metode Penelitian: Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* ini menggunakan mencit yang dibagi dalam 4 kelompok secara acak. Kelompok I sebagai kontrol negatif (pakan standar dan aquadest), Kelompok II diberi pakan standar, aquadest dan propolis dengan dosis 1,25 mg/kgBB, Kelompok III diberi pakan standar, aquadest dan propolis dengan dosis 2,5 mg/KgBB, Kelompok IV diberi pakan standar, aquadest dan propolis dengan dosis 5 mg/KgBB. Perlakuan diberikan selama 3 hari.

Hasil Penelitian: Rerata indeks daya fagosit makrofag didapatkan tertinggi pada Kelompok III $7,82 \pm 1,65$, dan terendah pada Kelompok I $3,43 \pm 0,13$. Hasil uji Kruskall Wallis, menunjukkan terdapat perbedaan indeks daya fagosit makrofag antar berbagai kelompok dengan $p < 0,002$ ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Propolis berpengaruh terhadap indeks fagositosis makrofag peritoneum mencit (Sains Medika, 3(2):121-128).

Kata kunci : propolis, indeks daya fagosit makrofag peritoneum mencit

PENDAHULUAN

Berbagai macam penyakit sangat bergantung pada kondisi pertahanan tubuh masing-masing individu. Penurunan sistem pertahanan tubuh saat adanya serangan zat asing dari luar tubuh (*xenobiotik*) maupun dari dalam tubuh membuat gangguan

1 Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (Unissula) Semarang

2 Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (Unissula) Semarang

* E-mail : diena_home@yahoo.co.id

kenyamanan bagi individu. Makrofag merupakan sel yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh alamiah. Kemampuan (daya) fagositosis makrofag sangat penting dalam menghadapi patogen mikroorganisme maupun sel dan jaringan sendiri yang telah rusak, sehingga makrofag dapat dikatakan sebagai *professional phagocytic cell* (Abbas *et al.*, 2008).

Krell dalam Jaya *et al.*, (2005) menyatakan propolis mengandung resin berupa flavonoid dan asam fenolat sebanyak 45-55%, asam lemak dan lilin sebanyak 25-53%, protein sebanyak 5% dan yang terakhir mineral dan senyawa organik lain berupa Zn, Fe, vitamin B3 dan fruktosa sebanyak 5%. Komposisi ini yang membuat propolis mempunyai kelebihan dibanding imunomodulator lain yang hanya mempunyai flavonoid sebagai komposisi utamanya. Flavonoid dan asam fenolat dikenal sebagai zat yang mampu meningkatkan sistem imun. Asam lemak dan fruktosa digunakan sel makrofag sebagai sumber energi ketika teraktivasi dan melakukan fagositosis. Selain sebagai sumber energi, asam lemak juga berperan sebagai bahan penyusun membran sel bersama protein yang menjaga permeabilitas dari membran sel makrofag.

Beberapa penelitian telah membuktikan beberapa khasiat yang dimiliki propolis diantaranya adalah penelitian Takagi *et al.*, (2005) didapatkan hasil makrofag lebih responsif terhadap stimulus IFN- γ setelah di induksi propolis dengan dosis 2,5 mg/kgBB selama 3 hari berturut-turut yang mekanismenya dengan cara menekan produksi antibodi oleh sel B. Jaya *et al.*, (2005) memperlihatkan peningkatan jumlah sel monosit pada mencit yang diinduksi propolis, dimana monosit merupakan prekursor awal sel makrofag yang berada dalam darah. Penelitian Orsolic (2002) memperlihatkan pemberian propolis pada tikus selama 14 hari meningkatkan persentase persebaran sel makrofag di kavitas peritoneal. Penelitian McLennan *et al.*, (2008) menunjukkan pemberian propolis pada tikus dalam jangka waktu yang berbeda dengan dosis yang sama yaitu 20 μ l memberikan efek yang berbeda. Pemberian dalam jangka waktu 6 hari lebih memperlihatkan peningkatan rata-rata jumlah sel makrofag hingga 12/10 lp dibandingkan pemberian propolis dalam jangka waktu 12 hari yang terlihat peningkatan rata-rata 8/10 lp. Hal ini menunjukkan bahwa propolis sebagai imunomodulator bersifat meningkatkan jumlah sel makrofag sebagai respon imun seluler bila diberikan dalam jangka waktu yang singkat.

Maka dari itu perlu dilakukan penelitian mengenai propolis sebagai imunomodulator pada daya fagosit dari makrofag sebagai prekursor monosit di seluruh jaringan tubuh yang mempunyai fungsi sebagai pertahanan pertama ketika terjadi inflamasi.

Propolis merupakan salah satu contoh imunomodulator alam yang banyak terdapat dan dibudidayakan di Indonesia. Secara kimia, propolis mengandung bahan kimia kompleks yang sangat kaya berbagai imunomodulator yang potensial berupa asam fenolat dan flavonoid yang memiliki banyak manfaat untuk meningkatkan aktivasi makrofag. *Cafeic Acid Phenethyl Ester* (CAPE) yang memiliki aktivitas sebagai imunomodulator juga terkandung didalamnya (Challem, 2004). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi propolis terhadap indeks fagositosis makrofag.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian ini merupakan penelitian laboratorium dengan metode *post test only control group design*. Bahan uji berupa larutan propolis dengan dosis 1,25 mg/KgBB/hari, 2,5 mg/KgBB/hari, dan 5 mg/KgBB/hari. Mencit diperoleh dari Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang. Sampel diperoleh secara acak sesuai dengan kriteria sehat dan tidak cacat. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Universitas Islam Sultan Agung. Sebanyak 20 ekor mencit ditempatkan pada kandang individual selama 4 hari untuk diadaptasikan. Pada penelitian ini terdapat 4 kelompok yaitu kelompok kontrol yang diberikan aquadest, kelompok pemberian larutan propolis dengan dosis 1,25 mg/KgBB/hari; 2,5 mg/KgBB/hari; dan 5 mg/KgBB/hari. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit yang diberikan perlakuan selama 3 hari berturut-turut. Pemberian bahan uji dilakukan secara oral dengan menggunakan jarum *canule* untuk mencit dengan volume 1 ml.

Isolasi Makrofag

Mencit dibunuh dengan diberikan narkose (kloroform). Mencit diletakkan dalam posisi telentang, kulit bagian perut dibuka dan dibersihkan dari selubung peritoneum dengan alkohol 70% (v/v) dan disuntikkan \pm 10 ml RPMI (Sigma®) dingin ke rongga peritoneum. Kemudian didiamkan selama \pm 3 menit sambil digoyang-goyang secara

perlahan (agar makrofag yang menempel di rongga peritoneum dan di sekitar usus dapat terlepas dan tersuspensi dalam medium RPMI). Cairan peritoneal dikeluarkan dari rongga peritoneum dengan dilakukan penekanan organ dalam dengan 2 jari, kemudian cairan diaspirasi dengan tabung injeksi (Terumo®) (dipilih pada bagian yang tidak berlemak dan jauh dari usus). Aspirat dipusingkan pada 1.200 rpm, 4°C selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dibuang dan kemudian ditambahkan 3 ml “medium RPMI komplit” (mengandung FBS (Sigma®) 10% v/v).

Jumlah sel dihitung dengan hemositometer, kemudian diresuspensikan dengan medium komplit sehingga didapat suspensi sel dengan kepadatan $2,5 \times 10^6$ /ml. Suspensi sel yang telah dihitung ditumbuhkan dalam *plate* 24 sumuran (NucN®) yang telah diberi *coverslips* (NucN®) bulat, setiap sumuran berisi 200 μ l (5×10^5 sel). Sel diinkubasikan dalam inkubator CO₂ 5%, 37°C (Mettler®) selama 30 menit, kemudian ditambahkan medium komplit 1 ml/sumuran dan inkubasi dilanjutkan selama 2 jam. Sel dicuci dengan RPMI 2x kemudian ditambahkan medium komplit 1 ml/sumuran dan inkubasi dilanjutkan sampai 24 jam.

Fagositosis Makrofag dengan *Latex Beads*

Kemampuan fagositosis non spesifik dilakukan *in vitro* menurut Leijh *et al.*, (1986) dengan menggunakan *latex beads* diameter 3 μ m (Sigma Chem. Co.). Lateks diresuspensikan dalam PBS (Sigma®) sehingga didapat konsentrasi $2,5 \times 10^7$ /ml. Makrofag peritoneum yang dikultur sehari sebelumnya dicuci 2x dengan RPMI, tambahkan suspensi lateks 200 μ l/sumuran dan diinkubasikan selama dalam inkubator CO₂ 5%, 37°C selama 60 menit. Sel kemudian dicuci dengan PBS 3x untuk menghilangkan lateks yang tidak difagositosis. Setelah itu keringkan pada suhu ruangan dan difiksasi dengan metanol selama 30 detik. Selanjutnya metanol dibuang dan *coverslips* didiamkan sampai kering. Setelah kering, *coverslips* dipulas dengan Giemsa (Merck®) 20% (v/v) selama 30 menit. Dicuci dengan air suling, diangkat dari sumuran kultur dan dikeringkan pada suhu kamar (Wijayanti, 2009). Seratus sel makrofag diamati dan dihitung jumlah makrofag yang memfagositosis partikel lateks dan jumlah lateks yang difagositosis oleh makrofag. Pengamatan makrofag dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya (Olympus®) dengan perbesaran obyektif 40x (Wijayanti, 2009). Indeks daya fagosit makrofag dihitung

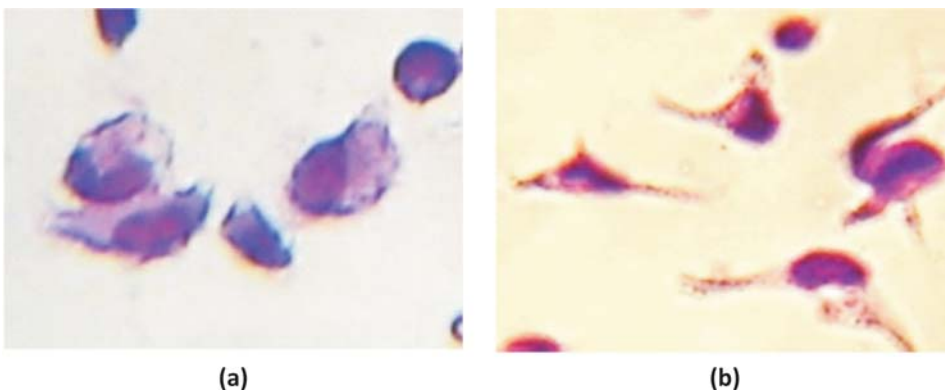
dengan rumus banyaknya lateks yang difagosit dibandingkan dengan makrofag yang memfagosit.

Analisis Hasil

Hasil disajikan dalam bentuk grafik rerata indeks daya fagositosis makrofag antar kelompok perlakuan. Data rerata yang diperoleh diuji dengan analisis non parametrik Kruskal Wallis diikuti dengan uji Mann Whitney U dengan interval kepercayaan 95%.

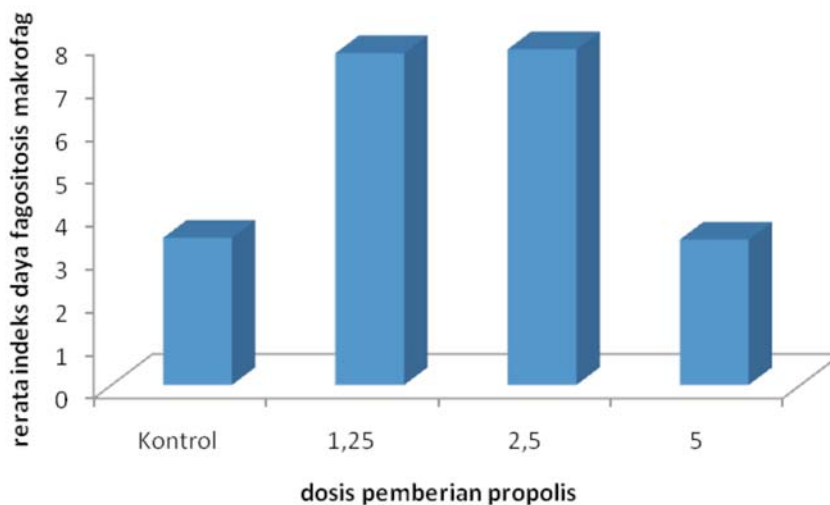
HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian indeks fagosit makrofag setelah pemberian propolis menunjukkan adanya sebagian besar perubahan morfologi sel makrofag pada kelompok perlakuan. Sebaliknya pada kelompok kontrol sebagian besar tidak menampakkan adanya perubahan morfologi sel makrofag (Gambar 1.). Pada kelompok kontrol (Gambar 1a) tampak makrofag dalam keadaan belum teraktivasi dengan morfologi sel yang bulat besar dengan inti eksentrik dan tidak menunjukkan adanya penjurulan pseudopodia. Berbeda dengan kelompok pemberian propolis dosis 2,5 mg/KgBB (Gambar 1b) terlihat adanya penjurulan pseudopodia makrofag. Penjurulan tersebut merupakan salah satu bentuk perubahan morfologi yang terjadi akibat adanya aktivasi makrofag oleh mikroorganisme patogen atau antigen yang lain.



Gambar 1. Morfologi sel makrofag yang diamati dibawah mikroskop cahaya (olympus) dengan perbesaran obyektif 40x. (1a) Merupakan gambaran morfologi sel makrofag yang dijumpai pada kelompok kontrol; (1b) merupakan gambaran morfologi sel makrofag pada kelompok pemberian propolis 2,5 mg/KgBB.

Rerata indeks daya fagositosis makrofag pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2. Pada kelompok kontrol diperoleh rerata indeks daya fagositosis makrofag sebesar 3,43 dan mengalami peningkatan rerata indeks setelah pemberian propolis dengan dosis 2,5 mg/KgBB yaitu sebesar 7,82.



Gambar 2. Grafik Rerata indeks daya fagosit makrofag peritoneal mencit pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Pada penelitian ini pemberian propolis dengan dosis tertinggi yaitu 5 mg/KgBB menunjukkan adanya penurunan rerata indeks daya fagositosis makrofag sebesar 3,39. Hasil analisis *Kruskal Wallis* menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok perlakuan dengan nilai $p=0,000$. Perbedaan bermakna antara 2 kelompok perlakuan diketahui dengan menggunakan analisis *Mann Whitney U* dengan interval kepercayaan 95%. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok pemberian propolis dosis 1,25 mg/KgBB dan 2,5 mg/KgBB ($p<0,05$) namun, tidak ditemukan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan pemberian propolis dosis 5 mg/KgBB ($p>0,05$).

Berdasarkan hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa propolis dapat meningkatkan rerata daya fagosit makrofag sampai dengan dosis 2,5 mg/KgBB. Pemberian propolis dengan dosis yang lebih besar sampai dengan 5 mg/KgBB tidak menunjukkan adanya peningkatan rerata fagositosis makrofag.

PEMBAHASAN

Pemberian propolis sebagai imunomodulator memberikan pengaruh pada indeks daya fagosit makrofag yang terlihat dari peningkatan rerata indeks daya fagosit makrofag bila diberikan pada dosis 2,5 mg/KgBB selama 3 hari dan menunjukkan sedikit peningkatan rerata indeks daya fagosit makrofag bila diberikan dalam dosis 5mg/KgBB bila dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa propolis sebagai imunomodulator, berpotensi meningkatkan indeks daya fagosit makrofag peritoneal mencit pada pemberian dosis dan dalam jangka waktu tertentu, dan sedikit meningkatkan indeks daya fagosit makrofag peritoneal bila diberikan dalam dosis yang lebih tinggi.

Hal ini dikarenakan sifat propolis sebagai imunomodulator dimana ketika diberikan dengan dosis kecil dan dalam jangka waktu yang singkat, dapat berpotensi meningkatkan rerata indeks daya fagosit makrofag, sedangkan bila diberikan dalam dosis yang besar dan dalam jangka waktu yang lama justru akan bersifat sebagai immunosupresan terhadap rerata indeks daya fagosit makrofag (Takagi *et al.*, 2005).

Propolis mempunyai aktivitas seperti IFN- γ yang menginduksi dan mengaktivasi makrofag dan limfosit T. Aktivasi makrofag mensekresi sitokin (IL-1, IL-6, IL-12 dan TNF- α) dan mengaktivasi sel T. Aktivasi sel T tersebut mensekresi IFN- γ yang menghambat diferensiasi produksi antibodi oleh sel B. Aktivitas propolis yang seperti IFN- γ yang mengakibatkan respon imun yang di mediasi oleh seluler teraktivasi, ketika respon imun humoral ditekan produksinya (Takagi *et al.*, 2005).

Orsolich (2002) mengemukakan aktivasi makrofag dapat terjadi karena propolis dapat meningkatkan aktivitas LAF (Lymphocyte Activating Factor) yang secara langsung dapat mengaktivasi makrofag dan membuat makrofag lebih responsif untuk memfagosit mikroorganisme karena propolis mempunyai aktivitas seperti sitokin IFN- γ yang berfungsi mengaktivasi makrofag.

Opcionisasi makrofag dengan antigen juga akan mengaktivasi sel NK (*Natural Killer*). Menurut penelitian Orsolich (2005) propolis dapat meningkatkan respon reseptor makrofag terhadap LPS dari mikroorganisme dengan menghasilkan IL-1, NO, dan TNF- α yang dapat meningkatkan aktivasi sel makrofag ketika ada mikroorganisme yang dianggap tigen.

KESIMPULAN

Pemberian propolis berpengaruh terhadap indeks daya fagosit makrofag peritoneal mencit (*Mus musculus*).

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang propolis sebagai imunomodulator terhadap respon imun dari golongan sistem imun humoral maupun sistem imun seluler selain makrofag.

DAFTAR PUSTAKA

Abbas et al., 2008

Challem J., 2004, *Tuberculosis, Medical Journals Document Value of Bee Propolis, Honey and Royal Jelly*, The Nutrition Reporter 2004.

Fatmah, 2006, Respon Imun Yang Rendah Pada Manusia Usia Lanjut, Departemen Gizi Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Indonesia, Depok. ffatmah@yahoo.com. Dikutip tgl 20.04.2011.

Takagi, Y., Choi, I., Yamashita, T., Nakamura, T., Suzuki, I., hasegawa, T., Oshima, M., Gu, Y., 2005, Immune Activation and Radioprotection by Propolis, Institute For Advance Research in Asian Science and Medicine, The American Journal of Chinese Medicine, Vol 33, No. 3 231-240

Jaya, F., Radiati, L., E., Awwaly, K., U., A., Kalsum, U., 2005, Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis Terhadap Sistem Kekebalan Seluler Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strai Wistar, Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang.

McLennan, S., V., Bonner, J., Milne, S., Lo, L., Charlton, A., Kurup, S., Jia, J., Yue, D., K., Twigg, S., M., 2008, The Anti-Inflammatory Agent Propolis Improves Wound healing in a Rodent Model of Experimental Diabetes, Department of Medicine, University of Sydney, Australia, 10.1111/j.1524-475x.2008.00421.x.

Orsolich, N., Knezevic, A., H., Basic, I., 2002, Propolis As a New Potential Immunomodulator In Mice: Antimetastatic Activity of Water Soluble Derivate of Propolis (WSDP), Mellivera, 2-3: 39-46.

—————, Terzic, S., Sver, L., Basic, I., 2005, Polyphenolic Compounds from propolis modulate Immune Responses And Increase Host Resistance To Tumour Cells, Food and Agricultural Immunology, 16(3): 165-179.

Roitt, 2001, Immunology 6th edition, NewYork : Mosby.

Wijayanti, M., 2009. Isolasi Makrofag dan Uji Daya Fagositosis. UGM.