

## Biji Cempedak (*Artocarpus integrifolia*) terhadap Aktivitas Fagositosis pada Mencit Jantan Galur Swiss

Rahmawati,<sup>1</sup> Yani Triyani,<sup>2</sup> Rika Nilapsari<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung

<sup>2</sup>Bagian Ilmu Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung

### Abstrak

Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) tahun 2008, dari 56 juta kematian, 21 juta kematian diakibatkan penyakit infeksi dan sisanya diakibatkan penyakit noninfeksi. Salah satu hal yang dapat ditingkatkan untuk mencegah penyakit yaitu dengan meningkatkan kemampuan sistem imun sel pejamu. Salah satu obat tradisional yang dapat meningkatkan sistem imun adalah biji cempedak (*Artocarpus integrifolia*). Tujuan penelitian ini untuk menilai pengaruh ekstrak air biji cempedak terhadap peningkatan aktivitas fagositosis pada mencit jantan galur Swiss. Penelitian dilakukan di Laboratorium Departemen Farmakologi Klinik Unpad dan Laboratorium Biomedik I Fakultas Kedokteran Unisba. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan 24 ekor mencit jantan galur Swiss sebagai subjek penelitian yang dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok I diberi air dan makanan pelet, kelompok II diberi *phosphat buffer saline* (PBS) sebagai kontrol standar, kelompok III diberi produk imunomodulator sebagai kontrol positif, kelompok IV diberi prednison sebagai kontrol negatif, kelompok V diberi ekstrak air biji cempedak 500 µg/mL PBS dan kelompok VI diberi ekstrak air biji cempedak 1.000 µg/mL PBS. Setiap kelompok diberikan perlakuan selama 7 hari. Pada hari terakhir, dilakukan pengukuran aktivitas fagositosis melalui uji bersihan karbon. Data dianalisis menggunakan *one-way analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan *Posthoc test Tukey* HSD. Hasil penelitian ini diperoleh bahwa pemberian ekstrak air biji cempedak dosis 500 µg tidak memberikan pengaruh pada peningkatan aktivitas fagositosis, sedangkan dosis 1.000 µg memberikan efek penurunan aktivitas fagositosis. Hasil penelitian ini belum dapat membuktikan efek ekstrak air biji cempedak sebagai imunostimulan.

**Kata kunci:** Aktivitas fagositosis, ekstrak air biji cempedak, mencit jantan galur Swiss

## Cempedak Seeds (*Artocarpus integrifolia*) to Phagocytic Activity in Male Mice Swiss Strain

### Abstract

According to the World Health Organization (WHO) in 2008, from 56 million deaths, 21 million deaths caused by infectious and the remnant caused by non infectious diseases. One of the things that could be improved to prevent the disease is to improve the ability of the immune system of the host cell. One of the traditional medicines that can enhance the immune system is Cempedak seeds (*Artocarpus integrifolia*). The purpose of this study was to assess the effect of the aqueous extract of the Cempedak seeds to increase phagocytic activity in male mice Swiss strain. This study was held at Laboratory of Department Clinical Pharmacology Unpad and Laboratory Biomedic I Unisba. This was an experimental study with 24 Swiss strains male mice divided into 6 groups. Group I was given water and pellets, group II was given phosphat buffer saline (PBS) as a control standard, group III was given immunomodulatory product as a positive control, group IV was given prednisone as a negative control, group V was given aqueous extract of Cempedak seeds 500 µg/mL PBS and group VI was given aqueous extract of Cempedak seeds 1,000 µg/mL PBS. Each group received the treatment for 7 days. On the last day, we measured phagocytic activity by carbon clearance test. The results were analyzed using one-way ANOVA, followed by Posthoc test Tukey HSD. The result of this study showed that the aqueous extract of Cempedak seeds of 500 µg did not give effect to an increase in phagocytic activity while the dose of 1,000 µg decreased phagocytic activity. The results cannot prove the effect of aqueous extract of Cempedak seeds as immunostimulants.

**Key words:** Aqueous extract of cempedak seeds, male mice strain Swiss, phagocytic activity

## Pendahuluan

Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) tahun 2008, dari 56 juta kematian, 21 juta kematian diakibatkan penyakit infeksi dan sisanya diakibatkan penyakit noninfeksi.<sup>1</sup> Profil Kesehatan Indonesia 2010 menyatakan bahwa 3 urutan teratas dari 10 penyakit terbanyak pada pasien rawat inap di rumah sakit adalah jenis penyakit infeksi.<sup>2</sup>

Suatu penyakit dapat timbul karena dipengaruhi oleh tiga hal yaitu sel pejamu (*host*), patogen (*agent*), dan lingkungan. Salah satu hal yang dapat ditingkatkan untuk mencegah penyakit yaitu dengan meningkatkan kemampuan sistem imun sel pejamu (*host*) terhadap patogen yang masuk ke dalam tubuh. Zat-zat tambahan dari luar yang dapat memperbaiki sistem imun disebut sebagai imunomodulator.

Kerja imunomodulator yaitu mengembalikan sistem imun yang terganggu (imunorestorasi), juga dapat memperbaiki fungsi sistem imun (imunostimulan) serta menghambat/menekan reaksi imun (imunopresan).<sup>3</sup> Imunostimulan dapat berasal dari bahan-bahan alam. Indonesia merupakan negara yang kaya bahan alam, khususnya tanaman obat (herbal) yaitu sekitar 25.000–30.000 spesies tanaman. Dari jumlah tersebut baru 7.000 spesies tanaman di Indonesia dipergunakan masyarakat sebagai obat dan baru 283 spesies tanaman yang didaftarkan ke Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia.<sup>4</sup> Hal ini menunjukkan masih banyak tanaman obat-obat lain yang belum diketahui fungsinya. Bahan alam yang memiliki potensi untuk diteliti sebagai imunostimulator adalah biji cempedak (*Artocarpus integrifolia*).

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya, ternyata *phosphate buffer saline* (PBS) ekstrak kasar biji cempedak mengandung lektin. Lektin biji cempedak itu menstimulasi proliferasi sel limfosit manusia, sel mononuklear darah perifer, dan sel T.<sup>5</sup>

Ekstrak kasar biji cempedak memiliki 2 lektin dengan spesifitas gula dan bahan biologis yang berbeda. Kedua lektin tersebut adalah *Jacalin* dan *Artin M*. *Artin M* dapat menginduksi produksi IL-12 oleh makrofag dan produksi IFN gama dan IL-17 pada mencit yang diinduksi *Candida albicans* dengan dosis *Artin M* 500 µg protein/mL PBS.<sup>6</sup> Selain itu, hasil penelitian lainnya menunjukkan bahwa *Artin M* ataupun *Artin M* dengan *Jacalin* dapat menginduksi respons imun Th1 dan Th17

dalam melawan infeksi *Candida albicans* secara *in vivo*.<sup>6</sup>

Pada penelitian ini akan diuji pengaruh ekstrak air biji cempedak yang tidak dipurifikasi (lektin) terhadap aktivitas fagositosis pada mencit jantan galur Swiss dengan metode uji bersihan karbon.

## Metode

Subjek penelitian adalah mencit jantan galur Swiss sebanyak 24 ekor. Kriteria inklusi dan eksklusi subjek penelitian ini adalah sebagai berikut: Mencit jantan galur Swiss sehat dengan aktivitas dan juga tingkah laku normal, bobot badannya 28–32 gram dan umur 8–12 minggu. Mencit tersebut tidak akan diikutsertakan dalam penelitian bila terjadi penurunan bobot badan lebih dari 10% selama masa adaptasi dan tampak sakit (gerak tidak aktif).

Mencit dibagi menjadi 6 kelompok secara acak, dengan grup I diberikan air dan makanan pelet, grup II diberikan *phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak 0,2 mL secara intraperitoneal (sebagai kontrol standar). Grup III diberi produk imunomodulator secara oral (sebagai kontrol positif) dengan dosis 19,5 mg/kgBB/hari, grup IV mencit diberi prednison secara oral (sebagai kontrol negatif) dengan dosis 25 mg/kgBB, grup V diberi campuran ekstrak biji cempedak dan PBS sebanyak 200 µL (500 µg ekstrak/mL PBS) secara intraperitoneal, dan grup VI diberi campuran ekstrak biji cempedak dan PBS sebanyak 200 µL (1.000 µg ekstrak/mL PBS) secara intraperitoneal.

Mencit diadaptasikan selama 7 hari. Setelah masa adaptasi, mencit diberi perlakuan sesuai dengan kelompok masing-masing selama 7 hari. Pada hari ketujuh, diukur aktivitas fagositosisnya. Biji cempedak dikupas dan dicuci dengan menggunakan air, kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Serbuk dikeringkan dengan menggunakan *fluid bed dryer* (FBD) pada suhu 30–35 °C hingga mempunyai kadar air 5%. Sebanyak 500 gram biji yang telah dikeringkan ditambahkan 5 L *phosphate buffer saline* (PBS) 0,01 M, pH 7,2. Campuran tersebut diinkubasi selama 24 jam dalam 4 °C kemudian disentrifugasi pada 2.000 g selama 20 menit di *Sorvall RC2B centrifuge*. Supernatan dipisahkan dan dialisis kembali dengan menggunakan PBS selama 48 jam. Ekstrak mengandung lektin di-*freeze dry* dan disimpan pada suhu 20 °C. Konsentrasinya diukur dengan mempergunakan

Metode Bradford dengan menggunakan serum albumin sebagai standar.<sup>6</sup>

Pengukuran aktivitas fagositosis ditentukan melalui uji bersihan karbon dengan prosedur uji bersihan karbon sebagai berikut: suspensi tinta karbon (dengan dilusi 1:50) diadministrasikan secara intravena sebanyak 0,1 mL/10 gBB.<sup>7</sup> Darah mencit tersebut diambil melalui vena ekor sebanyak lk. 25 mikroliter.<sup>7</sup> Pengambilan darah dilakukan sebanyak 5 kali yaitu sebelum disuntikkan koloid karbon dan menit ke-3, 6, 9, 12, dan 15 setelah penyuntikan karbon.<sup>7</sup> Sampel darah dihemolisis dengan 2 mL 0,1% asam asetat dan absorbansinya diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 675 nm.<sup>7</sup>

Kecepatan bersihan karbon diperoleh dari data 100-%T (transmitan) yang dibuat grafik terhadap waktu sehingga diperoleh koefisien regresi. Besarnya koefisien regresi menunjukkan aktivitas fagositosisnya.<sup>8,9</sup>

Hasilnya ditampilkan dalam rata-rata ± standar deviasi (SD). Untuk uji normalitas data menggunakan Uji Saphiro-Wilk. Jika datanya terdistribusi normal, dilanjutkan dengan *one-way analysis of variance* (ANOVA) diikuti dengan *Tukey HSD post-hoc test*. Nilai  $p < 0,05$  menunjukkan signifikan secara statistik.<sup>10</sup>

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Departemen Farmakologi Klinik Unpad dan Laboratorium Biomedik I Fakultas Kedokteran Unisba. Penelitian ini berdasarkan konsep 3R yaitu *refinement*, *reduction*, dan *replacement*. Prinsip *refinement* yaitu penelitian dilakukan dengan meminimalkan stres dan rasa nyeri pada hewan uji ketika dilakukan perlakuan.<sup>11</sup> *Reduction* yaitu jumlah sampel yang digunakan seminimal-minimalnya (dihitung berdasarkan

formula statistik).<sup>11</sup> *Replacement* yaitu berusaha mencari dan menggunakan metode lain (jika tersedia) yang tidak mempergunakan hewan hidup, misalnya dengan metode *in vitro*, akan tetapi tujuan penelitian tetap tercapai.<sup>11</sup> Metode yang paling mungkin bagi peneliti saat ini adalah dengan metode *in vivo*, yaitu memakai subjek penelitian mencit.

## Hasil

Aktivitas fagositosis dapat dinilai dari kecepatan bersihan karbon. Kecepatan bersihan karbon diperoleh dari koefisien kemiringan berdasarkan persamaan regresi 100-%T terhadap waktu. Nilai koefisien kemiringan dari masing-masing kelompok tertera pada Tabel 1.

Hasil uji statistik menggunakan uji ANOVA pada derajat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan koefisien kemiringan di antara kelompok perlakuan secara bermakna dengan nilai  $p < 0,001$  (nilai  $p \leq 0,05$ ).

Hasil uji lanjut koefisien kemiringan setiap kelompok perlakuan bila dibandingkan dengan kelompok standar, kontrol positif, dan kontrol negatif tertera pada tabel di bawah ini (Tabel 2).

## Pembahasan

Aktivitas fagositosisnya tersebut dapat dilihat berdasarkan besarnya koefisien regresi. Semakin negatif koefisien regresi, semakin tinggi aktivitas fagositosisnya. Dari hasil uji lanjut pada Tabel 2, diperoleh bahwa ekstrak air biji cempedak dosis 500 µg tidak berbeda bermakna terhadap kelompok PBS sebagai kontrol standar. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok ekstrak air biji cempedak dosis 500 µg tidak memberikan

**Tabel 1 Koefisien Kemiringan pada Kelompok Perlakuan**

	Koefisien Kemiringan	Urutan Aktivitas Fagositosis	Nilai p <sup>*)</sup>
Kelompok			<0,001
Air + pellet	-0,005	4	
PBS (kontrol standar)	-0,177	1	
Produk imunomodulator (kontrol positif)	-0,136	2	
Prednison (kontrol negatif)	0,031	6	
Ekstrak biji cempedak 500 µg	-0,079	3	
Ekstrak biji cempedak 1000 µg	-0,003	5	

\*) uji ANOVA

**Tabel 2 Uji Lanjut Koefisien Kemiringan Kelompok Ekstrak Air Biji Cempedak Dibandingkan dengan Kelompok Perlakuan Lainnya**

Kelompok	Koefisien Regresi Setelah Pemberian Ekstrak Air Biji Cempedak	
	Dosis 500 µg	Dosis 1.000 µg
	Nilai p	Nilai p
PBS (kontrol standar)	0,067	<0,001
Produk imunomodulator (kontrol positif)	0,585	0,003
Prednison (kontrol negatif)	0,025	0,924

pengaruh terhadap efek peningkatan aktivitas fagositosis. Walaupun koefisien kemiringannya lebih rendah dibandingkan dengan PBS yang artinya terjadi penurunan aktivitas fagositosis, namun ekstrak air biji cempedak dosis 500 µg tidak bersifat immunosupresan karena nilai p-nya dibandingkan dengan kontrol negatif berbeda bermakna, artinya ekstrak air biji cempedak dosis 500 tidak sama dengan kontrol negatif dalam memberikan pengaruh terhadap aktivitas fagositosis. Jika dibandingkan dengan produk dari imunomodulator sebagai kontrol positif, ekstrak air biji cempedak dosis 500 µg belum dapat menyamai kemampuan produk imunomodulator dalam meningkatkan aktivitas fagositosis.

Pemberian dosis ekstrak air biji cempedak dengan dosis 1.000 µg memberikan pengaruh menurunkan aktivitas fagositosis dibandingkan dengan kelompok ekstrak air biji cempedak 500 µg dan berbeda bermakna secara statistik dibandingkan dengan kontrol standar dengan nilai  $p < 0,001$ . Selain itu, pada Tabel 2 terlihat bahwa nilai p koefisien kemiringan antara ekstrak air biji cempedak dosis 1.000 µg dan kontrol negatif hampir mendekati 1, artinya ekstrak air biji cempedak dosis 1.000 µg dan prednison sebagai kontrol negatif memberikan efek yang hampir sama terhadap aktivitas fagositosis. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak air biji cempedak dengan dosis 1.000 µg bersifat immunosupresan. Ekstrak air biji cempedak dosis 1.000 µg memiliki nilai koefisien kemiringan yang masih lebih besar bila dibandingkan dengan kelompok prednison, artinya aktivitas fagositosisnya masih lebih baik dibandingkan dengan kelompok prednison

Ekstrak air biji cempedak dengan dosis 1.000 µg dan produk imunomodulator sebagai kontrol

positif memberikan efek yang berlawanan terhadap aktivitas fagositosisnya dan perbedaan tersebut bermakna secara statistik seperti yang terlihat pada Tabel 2. Keadaan ini menunjukkan bahwa ekstrak air biji cempedak 1.000 µg bukan sebagai immunostimulan dalam hal meningkatkan aktivitas fagositosis bila dibandingkan dengan kelompok produk imunomodulator sebagai kontrol positif.

Berdasarkan Tabel 1 dan Tabel 2, diperoleh bahwa pemberian ekstrak air biji cempedak dalam dosis yang berbeda yaitu 500 µg dan 1.000 µg memberikan pengaruh yang berbeda terhadap aktivitas fagositosis. Ekstrak air biji cempedak dosis 500 µg tidak memberikan pengaruh dalam peningkatan aktivitas fagositosis dan tidak pula bersifat immunosupresan, sedangkan bila dengan dosis 2 kali lipatnya yaitu 1.000 µg memberikan efek untuk menurunkan aktivitas fagositosis dan pengaruhnya ini sejalan dengan efek prednison sebagai kontrol negatif.

Pada penelitian ini dilakukan uji bersihan karbon untuk mengevaluasi efek ekstrak air biji cempedak terhadap efek aktivitas fagositosisnya. Fungsi fagositosis dan eliminasi partikel asing merupakan peran dari sistem retikuloendotelial (RES). Dari penelitian sebelumnya, *Artin M* yang merupakan salah satu kandungan dari lektin terbukti dapat mengaktivasi sel-sel fagosit saat ada patogen berupa mikroorganisme. *Artin M* yang terdapat pada lektin dapat mengaktivasi sel fagosit dalam keadaan infeksi yang lama sehingga makrofag sudah teraktivasi di dalam sistem RES. Pada penelitian ini, digunakan partikel karbon sebagai partikel asing untuk menguji respons imun nonspesifik secara cepat dan hasilnya menunjukkan bahwa kandungan lektin ekstrak biji cempedak tidak dapat menginduksi kerja fagositosis yang cepat saat disuntikkan karbon

sebagai partikel asing yang harus dieliminasi.

Pada penelitian sebelumnya, digunakan *Artin M* murni yang terbukti mampu meningkatkan aktivitas fagositosis dengan dosis sebesar 500 µg.<sup>6</sup> Namun, pada penelitian ini, ekstrak biji cempedak yang digunakan tidak murni *Artin M* tetapi gabungan *Artin M* dan *Jacalin* (lektin) sehingga pada pemberian dosis ekstrak air biji cempedak dosis 500 µg ada kemungkinan dosis *Artin M* yang terkandung dalam lektin belum tentu sebesar 500 µg.

Ekstrak air biji cempedak dosis 1.000 µg memberikan efek penurunan aktivitas fagositosis dimungkinkan oleh karena konsentrasi protein yang terlalu tinggi sehingga bersifat toksik dan memberikan efek immunosupresan. Oleh karena itu, perlu diperhitungkan dosis optimasi lektin dalam kemampuan memengaruhi peningkatan aktivitas fagositosis.

### Simpulan

Ekstrak air biji cempedak dosis 500 µg tidak memberikan pengaruh terhadap peningkatan aktivitas fagositosis, sedangkan dengan dosis 1.000 µg menurunkan aktivitas fagositosis.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk mengikuti program pendidikan sarjana kedokteran di Universitas Islam Bandung, pihak Farmasi Institut Teknologi Bandung, Laboratorium Departemen Farmakologi Klinik Unpad dan Lab Biomedik FK Unisba atas kerjasamanya, dukungan, dan waktunya.

### Daftar Pustaka

- World Health Organization. WHO health statistics 2011 (diunduh 3 Maret 2012). Tersedia dari: <http://www.depkes.go.id>.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Profil kesehatan Indonesia 2010 (diunduh 5 Maret 2012). Tersedia dari: <http://www.depkes.go.id>
- Baratawidjaja KG. Immunologi dasar. Edisi ke-8. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2009.
- Dewoto Hedi R. Pengembangan obat tradisional Indonesia menjadi fitofarmaka. MKI. 2007 Jun;57.
- Bunn-Moreno MM, Campos-Neto A. Lectin(s) extracted from seeds of *Artocarpus integrifolia* (jackfruit): potent and selective stimulator(s) of distinct human T and B cell functions. *J Immunol.* 1981;127(2):427-9.
- Custodio LA, Loyola W, Conchon-costa I, Fernando G, Felipe I. International immunopharmacology protective effect of *ArtinM* from extract of *Artocarpus integrifolia* seeds by Th1 and Th17 immune response on the course of infection by *Candida albicans*. *Intern Immunopharmacol.* 2011;6-11. Tersedia dari: <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2011.05.005>.
- Mayank T, Shilpi B, Dixit VK. Immunomodulatory activity of *Chlophytum Borivilium* Sant.F. e-Cam. 2006 Des 16;4(4):419-23.
- Chandraraj S, Prakash B, Kalyane, Navanath. Immunomodulatory activities of ethyl extracts of two marine sponges *Gelliodes fibrosa* and *Tedania anhelans* and brown algae *Sargassum ilicifolium* with reference to phagocytosis. *Research J Pharmaceutical Scie.* 2010 April;1(2):302.
- Yuliana Riana, Andreanus A, Maria Immaculata. Pengaruh ekstrak air daun dewa {*Gynuraproscumbens* (Lour.) Merr} dan benalu teh {*Scurrulaaortiana* (Korth.) Danser} terhadap respons imun spesifik dan nonspesifik pada mencit BALB/C. (skripsi Sarjana Strata-1). Bandung: Institut Teknologi Bandung; 2001.
- Dahlan MS. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Edisi ke-5. Jakarta: Salemba Medika; 2011.
- Rasad A. Pedoman nasional etik penelitian Kesehatan. Suplemen II. Etik penggunaan hewan percobaan. Jakarta: Komisi Nasional Etik Penelitian Kesehatan Departemen Kesehatan RI; 2006.