

**Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Makasar  
(*Brucea javanica* [L.] Merr) terhadap Aktivitas dan Kapasitas  
Fagositosis serta Produksi ROI Sel Fagosit Mencit secara  
*In vivo***

**(The Influence of Macassar Fruit (*Brucea javanica* [L.] Merr)  
Ethanol Extract on Phagocytic Activity and ROI Production  
of Mice Phagocyte Cells *In vivo*)**

**ROS SUMARNY\*, SILVI RISDIYANTI**

**Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta 12640**

**Diterima 22 November 2011, Disetujui 2 Maret 2012**

**Abstrak:** Salah satu cara untuk mencegah penyakit adalah dengan meningkatkan efektivitas sistem imun badan dalam melawan penyebab penyakit. *Brucea javanica*(L.) Merr adalah tanaman suku *Simarubaceae* yang diketahui mengandung senyawa kuasinoid yang memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker, antiplasmodium dan meningkatkan efektifitas sistem imun humoral. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol buah makasar terhadap sistem imun non spesifik dengan menghitung aktivitas dan kapasitas fagositosis serta produksi *reactive oxygen intermediate* (ROI) sel fagosit mencit secara *in vivo* pada dosis 100, 200 dan 300 mg/kg BB. Lima kelompok tikus masing-masing terdiri dari 12 ekor disiapkan untuk 6 ekor dikorbankan setelah 7 hari dan 14 hari perlakuan dengan ekstrak etanol buah Makasar dengan dosis 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 300 mg/kg, serta kontrol positif Stimuno. Hasil menunjukkan bahwa aktivitas fagositosis meningkat dengan meningkatnya dosis perlakuan. Aktivitas fagositosis tertinggi dicapai dengan dosis 300 mg/kg, diamati setelah 7 hari maupun 14 hari perlakuan, dengan kenaikan aktivitas fagositosis sebesar 65,60% dan 70,5%. Produksi ROI sel fagosit menunjukkan respon yang berbeda setelah 7 hari atau 14 hari perlakuan dengan ekstrak etanol buah Makasar. Produksi ROI meningkat 43% setelah 14 hari pemberian ekstrak etanol buah Makasar 300 mg/kg BB.

**Kata kunci:** Buah Makasar, *Brucea javanica* [L.] Merr, aktivitas fagositosis, ROI, *in vivo*.

**Abstract:** One way to prevent of disease through increased endurance by increasing the effectiveness of the immune system to fight the causes of disease. Macassar fruit (*Brucea javanica* [L.] Merr) of *Simarubaceae* is known containing quasinoid which has cytotoxic activity against cancer, antiplasmodium, and improving the effectiveness of humoral immun system. The work is to investigate the effect of Macassar fruit ethanol extract on the activity and phagocytic capacity, as well as phagocyte ROI production of mice phagocyte cells. Five groups consisted of 12 mice per group were prepared. Group I, a normal control was given distilled water, Group II was given orally with Macassar fruit ethanol extract dose of 100 mg/kg, Group III a dose of 200 mg/kg, Group IV a dose of 300 mg/kg, and positive control group V was given Stimuno. Results showed that the phagocytic activity of phagocyte cells increased with increasing doses. The highest phagocytic activity was achieved by the 300 mg/kg dose, observed either at 8<sup>th</sup> and 15<sup>th</sup> days after the treatment, with an increase in phagocytic activity of 65.60% and 70.5%. ROI production of phagocytic cells has different response after 7 days or 14 days treatment with Macassar fruit extract. The ROI production increased by 43% after 14 days treatment with Maccasar fruit ethanol extract with the dose of 300 mg/kg BW.

**Keywords:** Macassar Fruit, *Brucea javanica* [L.] Merr, phagocytic activity, ROI, *in vivo*.

\* Penulis korespondensi, Hp. 081318463091  
e-mail: rosaries15@gmail.com

## PENDAHULUAN

LINGKUNGAN di sekitar manusia mengandung berbagai jenis unsur patogen, misalnya bakteri, virus, fungi, protozoa dan parasit yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia. Infeksi yang terjadi pada individu normal umumnya dapat diatasi oleh tubuh. Hal ini disebabkan tubuh manusia memiliki suatu sistem yang disebut sistem imun yang memberikan respon dan melindungi tubuh terhadap unsur-unsur patogen tersebut<sup>(1)</sup>.

Salah satu upaya tubuh untuk mempertahankan diri terhadap masuknya antigen, misalnya antigen bakteri adalah menghancurkan bakteri yang bersangkutan secara non spesifik dengan proses fagositosis. Dalam hal ini leukosit yang termasuk sel fagosit yang memegang peranan yang sangat penting dalam melakukan fagositosis untuk mengeliminasi antigen<sup>(2)</sup>.

Buah Makasar (*Brucea javanica* [L.] Merr) adalah salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat. Kandungan utama tanaman ini adalah bruceatin sebagai salah satu senyawa kuasinoid yang terbanyak, brusatol, brusein D dan E, bruseosida A, bruseosida B, bruseosida C, bruseosida D, bruseantinosid A dan yadasoisid D<sup>(3)</sup>. Hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa kandungan kuasinoid dari buah Makasar mempunyai aktivitas sitotoksik<sup>(4)</sup>.

Penelitian yang dilakukan oleh Kumala secara *in vitro* didapatkan adanya kapang dan bakteri endofit dari tanaman *Brucea javanica* (L.) Merr yang memiliki efek sitotoksik yang selektif terhadap sel kanker dengan nilai IC<sub>50</sub> lebih kecil dari 20 µg/mL<sup>(5)</sup>. Hasil penelitian Kristina menunjukkan bahwa fraksi etil asetat buah makasar pada dosis oral sebesar 1,2 mg/20 g BB dapat meningkatkan kadar IgG serum pada mencit. Immunoglobulin ini merupakan bagian dari sistem imun spesifik humoral<sup>(6)</sup>.

Hasil penelitian uji efektivitas ekstrak etanol buah makasar terhadap *Plasmodium berghei* menunjukkan dosis efektif buah makasar adalah 48,93 mg/kg BB. Imunitas terhadap malaria sangat kompleks karena melibatkan seluruh komponen sistem imunitas baik spesifik maupun nonspesifik, imunitas humoral maupun seluler yang timbul secara alami maupun didapat sebagai akibat infeksi<sup>(7)</sup>. Timbulnya infeksi tersebut akan memicu tubuh untuk mengeliminasi mikroorganisme patogen yang ada antara lain melalui fagositosis. Mikroorganisme dapat dibunuh melalui *respiratory burst* oleh beberapa metabolit oksigen mikrobisidal yang dilepas selama fagositosis. *Respiratory burst* adalah proses yang menghasilkan reactive oxygen intermediate (ROI) yang sangat reaktif dalam proses membunuh bakteri dan prosesnya sendiri terjadi beberapa saat setelah fagositosis<sup>(8)</sup>. Namun demikian

pengaruh buah makasar terhadap stimulasi respon imun seluler belum pernah dilaporkan. Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dipelajari pengaruh buah makasar terhadap sistem imun seluler khususnya fagositosis sel fagosit. Dalam penelitian ini akan diuji pengaruh pemberian ekstrak etanol buah makasar terhadap sistem kekebalan tubuh dengan mengukur aktivitas dan kapasitas fagositosis serta produksi ROI sel fagosit dalam cairan peritoneum mencit.

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN.** Dalam penelitian ini digunakan Buah makasar (*Brucea javanica* (L.) Merr) diperoleh dari kebun penelitian BALITTRO, kemudian dideterminasi di Balai Penelitian Biologi, Herbarium Bogoriense Bogor dan di ekstraksi secara maserasi dengan etanol 70 % di Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor; NBT (Sigma), pewarna Giemsa, STIMUNO (Dexa Medica), DMSO (Sigma), KCN 0,01M, HCl 0,5 N, larutan NaCl 0,9 %, dan larutan *phosphate buffer saline* (PBS).

**Alat.** Elisa reader (Biotex USA Elx 800), *laminar air flow* (Gelman Sci), hemositometer (Neubauer Superior), spektrofotometer UV-vis, mikroskop (Olympus), dan *plate* sumuran 96 well (Titertek).

**Hewan coba.** Mencit galur DDY, diperoleh dari Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) berumur 4-6 bulan, berat badan 20-25 g. Sebelum digunakan sebagai hewan percobaan, semua mencit dipelihara terlebih dahulu selama kurang lebih satu minggu untuk penyesuaian lingkungan, pengawasan kesehatan dan berat badan serta penyeragaman makanan.

**Bakteri uji.** *Staphylococcus epidermidis* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Koloni bakteri pada media nutrisi agar miring diambil dengan menggunakan ose atau sengkeli yang sudah disterilkan lalu diinokulasikan ke dalam larutan TSB steril dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kultur kemudian sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit dan supernatan dibuang.

**METODE.** Pengaruh pemberian ekstrak etanol buah makasar (*Brucea javanica*) diamati secara *in vivo* dengan menggunakan mencit jantan galur DDY sebagai hewan coba.

**Pemberian ekstrak buah makasar.** Hewan coba (60 ekor) dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 12 ekor mencit. Ekstrak etanol buah Makasar diberikan per oral setiap hari selama 14 hari, 6 ekor dari tiap kelompok dieuthanasia pada hari ke 8 untuk pengamatan, dan 6 ekor lagi dieuthanasia pada hari 15 untuk pengamatan. Kelompok I digunakan sebagai kontrol normal, mencit

diberikan *aquadest*. Kelompok II diberikan ekstrak etanol buah makasar dosis 100 mg/kgBB setiap hari. Kelompok III diberikan ekstrak etanol buah makasar dosis 200 mg/kgBB setiap hari. Kelompok IV diberikan ekstrak dengan dosis 300 mg/kgBB. Kelompok V sebagai kontrol positif diberikan Stimuno dengan dosis 0,55 mg/20 g BB setiap hari.

**Uji fagositosis<sup>(7)</sup>.** Uji aktivitas fagositosis terhadap sel fagosit mencit dilakukan dengan modifikasi metode *Wagner*. Pada hari-hari tersebut diatas, 6 ekor mencit tiap kelompok dieuthanasi dengan eter, didiamkan beberapa saat sampai mencit benar-benar mati. Perut mencit dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70%, kemudian ke dalam peritoneum diinjeksikan 2,5 mL PBS. Peritoneum dibedah menggunakan gunting bedah dan pinset steril. Cairan peritoneum diambil hati-hati dengan menggunakan pipet mikro kemudian dihitung jumlah sel fagosit dengan hemositometer sehingga diperoleh jumlah sel fagosit adalah  $10^7/\text{mL}$ .

Sebanyak 200  $\mu\text{L}$  suspensi sel fagosit ( $10^7$  sel/ $\text{mL}$ ) ditambah 200  $\mu\text{L}$  suspensi bakteri *S.epidermidis* ( $10^9$  CFU), dan diinkubasi pada  $37^\circ\text{C}$  selama 1 jam. Proses fagositosis dihentikan dengan penambahan 50  $\mu\text{L}$  larutan EDTA 0,02 M, kemudian dibuat preparat ulas dengan pewarnaan *Giemsa* dan didiamkan selama 10 menit, lalu dibilas dengan air dan dikeringkan. Jumlah sel fagosit yang aktif dan jumlah bakteri yang difagositosis oleh sel fagosit dihitung. Aktivitas dan kapasitas fagositosis sel fagosit dihitung.

Aktivitas fagositosis<sup>(7)</sup> ditetapkan berdasarkan jumlah sel fagosit yang aktif melakukan proses fagositosis dalam 100 sel fagosit, kemudian dinyatakan dalam %. Kapasitas fagositosis<sup>(7)</sup> ditetapkan berdasarkan jumlah bakteri yang difagositosis oleh 50 sel fagosit aktif.

**Produksi ROI<sup>(7)</sup>.** Sebanyak 200  $\mu\text{L}$  suspensi sel fagosit ( $10^7$  sel/ $\text{mL}$ ) ditambah 200  $\mu\text{L}$  suspensi bakteri *S.epidermidis* ( $10^9$  CFU) dan 100  $\mu\text{L}$  KCN 0,01 M, diinkubasi pada  $37^\circ\text{C}$  selama 1 jam kemudian dilanjutkan dengan penambahan 0,5 mL *Nitro Blue Tetrazolium* (NBT) dan diinkubasi pada  $37^\circ\text{C}$  selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan HCl 0,5 M, dan disentrifugasi (1000 g) pada suhu  $4^\circ\text{C}$  selama

10 menit.

Endapan NBT tereduksi (formazan) dilarutkan dengan 1 mL DMSO dan serapan diukur dengan ELISA reader pada  $\lambda = 630$  nm. Nilai serapan NBT tereduksi menunjukkan jumlah produksi ROI, yaitu nilai serapan kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol normal dengan nilai *cut off* sebesar  $2 \times \text{SD}$  kelompok kontrol normal.

**Rancangan dan Analisis.** Data aktivitas dan kapasitas fagositosis diuji homogenitas dan kenormalannya. Jika data homogen dan normal, kemudian dilakukan Uji Parametrik ANOVA Satu Arah. Jika hasil uji ANOVA menunjukkan perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk melihat perbedaan pada tiap kelompok. Batas kesalahan  $\lambda = 0,05$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemberian ekstrak etanol buah Makasar (*Brucea javanica*) terhadap mencit menyebabkan terjadinya perangsangan respon imun mencit. Ekstrak etanol buah Makasar yang diberikan dengan dosis yang sama pada setiap individu dalam satu kelompok perlakuan dan dosis yang berbeda antar kelompok, menunjukkan perbedaan pada proses fagositosis sel fagosit (Tabel 1 dan Gambar 1).

Tabel 1 menunjukkan aktivitas fagositosis sel fagosit dari setiap kelompok perlakuan setelah 7 hari dan 14 hari pemberian ekstrak. Aktivitas fagositosis setelah 7 hari pemberian ekstrak, kelompok I kontrol



Gambar 1. Persentase aktivitas fagositosis sel fagosit.

Tabel 1. Aktivitas fagositosis sel fagosit.

No	Kelompok mencit	Rata-Rata Aktivitas (%)	
		7 hari	14 hari
I	Kontrol normal	53,83±2,14 <sup>a</sup>	52,67±2,07 <sup>a</sup>
II	Dosis 100 mg/kg BB	54,30±1,75 <sup>a</sup>	57,00±2,00 <sup>a</sup>
III	Dosis 200 mg/kg BB	62,67±1,63 <sup>b</sup>	67,00±1,55 <sup>b</sup>
IV	Dosis 300 mg/kg BB	65,60±1,86 <sup>c</sup>	70,50±2,17 <sup>c</sup>
V	Kontrol Stimuno	71,00±2,14 <sup>d</sup>	77,70±2,80 <sup>d</sup>

Keterangan: a,b,c,d menunjukkan nilai berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).

Tabel 2. Kapasitas fagositosis.

No	Kelompok	Rata-Rata Kapasitas Fagositosis	
		7 hari	14 hari
I	Kontrol normal	576,83 ± 29,67 a	495,70 ± 24,42 a
II	Dosis 100 mg/kg	613,50 ± 17,48 b	606,80 ± 26,65 a
III	Dosis 200 mg/kg	687,33 ± 31,53 c	715,50 ± 22,76 b
IV	Dosis 300 mg/kg	758,33 ± 29,54 d	778,70 ± 29,21 c
V	Kontrol Stimuno	859,67 ± 34,22 e	882,70 ± 25,83 d

Keterangan: a,b,c,d, e menunjukkan nilai berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).



Gambar 2. Kapasitas fagositosis sel fagosit.

normal sebesar (53,83±2,14)%, kelompok II (54,30 ±1,75)%, kelompok III (62,67±1,63)%, kelompok IV (65,60±1,86)% dan kelompok kontrol positif sebesar (71,00±2,14)%. Aktivitas fagositosis setelah 14 hari pemberian ekstrak etanol tidak menunjukkan peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan aktivitas fagositosis setelah 7 hari pemberian ekstrak.

Tabel 1 menunjukkan bahwa jangka waktu pemberian ekstrak 7 hari atau 14 hari berpengaruh pada nilai aktivitas fagositosis. Dari tabel tersebut terlihat lamanya pemberian ekstrak mempengaruhi nilai aktivitas. Pemberian ekstrak etanol buah Makasar dosis 100 mg/kg BB menunjukkan sedikit perbedaan dari kontrol normal, namun perbedaan jelas terjadi pada pemberian ekstrak etanol dengan dosis 200 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB. Pemberian ekstrak etanol dosis 200 atau 300 mg/kg BB selama 7 hari dan 14 hari menunjukkan dengan jelas mempengaruhi nilai aktivitas fagositosis. Pemberian dosis ekstrak etanol dengan dosis 300 mg/kg sampai 14 hari masih dapat meningkatkan aktivitas fagositosis (70,50±2,17)%, walaupun belum sebanding dengan aktivitas fagositosis kontrol positif Stimuno (77,70±2,80)%. Pemberian dosis ekstrak etanol yang lebih besar belum dilakukan.

Peningkatan dosis ekstrak etanol buah Makasar (100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB) memberikan nilai peningkatan kapasitas fagositosis (Tabel 2 dan Gambar 2). Kapasitas fagositosis terbesar diperoleh pada pemberian ekstrak dengan dosis 300 mg/kg BB (14 hari) dengan peningkatan kapasitas fagositosis sebesar 36%. Nilai ini masih lebih kecil

bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (Stimuno, 14 hari) yang menghasilkan peningkatan sebesar 43% dibandingkan kelompok kontrol normal.

Tabel 2 juga menunjukkan bahwa uji BNT pada kapasitas fagositosis setelah pemberian ekstrak 100, 200, maupun 300 mg/kg BB selama 7 hari dan 14 hari tidak menunjukkan perbedaan nyata dari kontrol normal, yang berarti bahwa lama pemberian ekstrak tidak mempengaruhi nilai kapasitas fagositosis.

Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan aktivitas fagositosis dan kapasitas fagositosis sel fagosit peritoneum mencit, sesuai dengan peningkatan dosis ekstrak buah makasar yang diberikan baik selama 7 maupun 14 hari. Aktivitas fagositosis dan kapasitas fagositosis tertinggi dicapai pada pemberian dosis ekstrak etanol 300mg/kg BB, namun kedua nilai tersebut masih lebih rendah dari nilai kontrol positif dengan pemberian stimuno dosis 0,55 mg/20 g BB.

Aktivitas dan kapasitas fagositosis sel fagosit pada hewan coba yang diberi ekstrak buah Makasar menunjukkan peningkatan dibandingkan dengan sel fagosit yang tanpa diberikan ekstrak. Ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah makasar mempengaruhi nilai aktivitas dan kapasitas fagositosis dan semakin tinggi dosis ekstrak buah makasar yang diberikan maka aktivitas dan kapasitas fagositosis semakin meningkat.

Nilai produksi ROI sel fagosit setelah 7 hari pemberian ekstrak buah makasar memiliki respon yang berbeda dari pemberian ekstrak selama 14 hari. Tabel 3 menunjukkan bahwa respon positif setelah 7 hari pemberian ekstrak hanya diberikan oleh dosis

Tabel 3. Serapan NBT tereduksi (formazan).

No	Kelompok	Serapan NBT Tereduksi	
		7 hari	14 hari
I	Kontrol normal	0,041	0,032
II	Dosis 100 mg/kg BB	0,039	0,052
III	Dosis 200 mg/kg BB	0,042	0,053
IV	Dosis 300 mg/kg BB	0,045	0,056
V	Stimuno	0,048	0,057

Keterangan: nilai *cut off* 7 hari adalah 0,044 dan 14 hari adalah 0,039

300mg/kg BB, sedangkan respon positif setelah 14 hari pemberian ekstrak sudah diberikan oleh dosis 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 300 mg/kg BB.

### SIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol buah Makasar dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, dan 300 mg/kg BB dapat meningkatkan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel fagosit mencit.

Aktivitas dan kapasitas fagositosis sel fagosit meningkat sesuai dengan dosis pemberian ekstrak buah Makasar, yaitu setelah 7 hari dan 14 hari pemberian dosis 300mg/kg BB menghasilkan kenaikan aktivitas fagositosis sebesar 65.60% dan 70.5%.

Nilai produksi ROI sel fagosit pada pemberian ekstrak 7 hari dan 14 hari menunjukkan perbedaan. Respon positif pada 7 hari pemberian ekstrak hanya terlihat pada dosis 300 mg/kg BB, sedangkan pada 14 hari pemberian ekstrak respon positif terlihat baik pada dosis 100 mg/kg, 200 mg/kg maupun 300 mg/kg BB.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Bratawidjaja KG. Pengertian imuno-kompromis dan respon imun. Cermin Dunia Kedokteran. 2003. 83:5.
2. Atlas RM. Phagocytosis in microbiology fundamentals and applications. New York: McMillan Co; 1984. 476-88.
3. Kim IH, Takashima S, Histotsyunagi Y, Hasuda Y, dkk. New quassinoids javanicolides C and D and javanicolides B and F from seeds of *Brucea javanica*. J Nat Prod. 2004. 67:863-8.
4. Sonlimar M, Sismindari, Mustofa. Uji sitotoksik in vitro ekstrak kloroform *Brucea javanica* L.(Meer), Ipomoea batatas Poir, Mussaenda pubescens Ait.F dan Portulaca oleracea L terhadap sel Hela. Majalah Farmasi Indonesia 2002.13(4):215-22.
5. Kumala S. Isolasi dan penapisan mikroba endofit tanaman *Brucea javanica* (L.) Merr serta uji sitotoksik metabolit sekunder terhadap beberapa sel kanker secara in vitro [disertasi], Jakarta: Universitas Indonesia; 2005. 107-15.
6. Kristina. Pengaruh pemberian fraksi etil asetat buah makasar (*Brucea javanica* [L.] Merr.) terhadap kadar IgG serum [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2010. 33.
7. Praptiwi, Chairul dan Mindarti H. Uji efektivitas ekstrak etanol buah makasar terhadap *Plasmodium berghei* secara *in vivo* pada mencit [abstrak]. Bogor:Puslit Biologi-LIPI; 2005.
8. Kresno SB. Imunologi diagnosis dan prosedur laboratorium edisi IV. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2001. 6-12, 33-4.