

## **Aktivitas Immunomodulator Ekstrak Etanol Kemukus (*Piper cubeba*), Kiseureuh (*Piper aduncum*), dan Cabe Jawa (*Piper retrofractum*) pada Mencit Jantan Galur Balb/C**

### **(Immunomodulatory Activity of Ethanolic Extract of Kemukus (*Piper cubeba*), Kiseureuh (*Piper aduncum*), dan Cabe Jawa (*Piper retrofractum*) in Balb/C Mice)**

MOHAMMAD ROSENO\*, YAYAT SUDARYAT, DAN WIDYASTIWI

Jurusan Farmasi, Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung, Bandung, 41061, Indonesia

\* Penulis korespondensi, Hp. 0895360982578

e-mail: mohammad.roseno@gmail.com

Diterima 14 Agustus 2018, Disetujui 12 September 2019

**Abstrak:** Tanaman dari keluarga Piperaceae telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antibakteri, antikanker, dan aktivitas lain yang mengarah pada aktivitas sistem imun. Beberapa tanaman dari keluarga ini juga telah dilaporkan memiliki aktivitas sebagai immunomodulator. Kemukus (*Piper cubeba*), kiseureuh (*Piper aduncum*), dan cabe jawa (*Piper retrofractum*) adalah tiga tanaman dari keluarga *piperaceae* yang banyak tersebar di daerah Jawa Barat, namun belum banyak diteliti. Penelitian bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas immunomodulator ketiga tanaman dari keluarga *piperaceae* tersebut pada mencit jantan galur Balb/c dengan metode bersihan karbon. Penelitian dilakukan dengan membagi hewan coba menjadi 12 kelompok, yaitu kelompok kontrol normal, pembandingan immunosupresan, pembandingan immunostimulan, serta masing-masing tiga kelompok variasi dosis kemukus, kiseureuh, dan cabe jawa. Parameter aktivitas immunomodulator ditinjau dari indeks fagositosis, kadar leukosit darah tepi, dan kadar leukosit limpa. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol kemukus (*P. cubeba*) memiliki aktivitas immunomodulator sebagai immunosupresan, sedangkan cabe jawa (*P. retrofractum*) sebagai immunostimulan. Ekstrak etanol kiseureuh (*P. aduncum*) dosis rendah memiliki aktivitas immunosupresan, sedangkan pada dosis sedang dan tinggi memiliki kecenderungan sebagai immunostimulan. Ketiga tanaman tersebut juga mempengaruhi jumlah komponen granulosit darah tepi, namun tidak mempengaruhi jumlah komponen granulosit limpa. Temuan ini menunjukkan bahwa *P.cubeba*, *P.aduncum*, and *P.retrofractum* berpotensi untuk dikembangkan sebagai immunomodulator, baik immunostimulan maupun immunodepresan.

**Kata Kunci:** *Piper cubeba*, *Piper retrofractum*, *Piper aduncum*, immunomodulator, carbon clearance

**Abstract:** Plants of Piperaceae family have been widely known for its antiinflammation, anticancer, and other activities related to immune system. Several plants of Piperaceae family have also been reported to have activity as immunomodulators. *Piper cubeba*, *Piper aduncum*, and *Piper retrofractum* belong to piperaceae family and widely distributed in West Java, Indonesia. However, research related to these plants are still limited. Thereby, purpose of this study were to evaluate the immunomodulatory activity of ethanolic extracts of these plants in Balb/C mice. Animals were divided into 12 groups : normal control group, immunosuppressant comparison, immunostimulant comparison, and low, moderate, and high dose of *P.cubeba*, *P.aduncum*, and *P.retrofractum*. Phagocytosis index, peripheral blood leukocyte levels, and splenic leukocyte levels were analyzed. The results showed that ethanolic extract of *P.cubeba* has immunosuppressant activity, meanwhile *P.retrofractum* tend to have immunostimulant activity. Low doses of *P.aduncum* acts as immunosuppressant, and at medium and high doses has a tendency to be immunostimulant. Ethanolic extract of *P.cubeba*, *P.aduncum*, and *P.retrofractum* affect the number of peripheral blood granulocyte components, but did not affect the number of splenic granulocyte components. These findings conclude that *piperaceae* family, especially *P.cubeba*, *P.aduncum*, and *P.retrofractum*, are potential source to be developed as immunomodulators.

---

**Keywords:** *Piper cubeba*; *Piper retrofractum*; *Piper aduncum*; immunomodulatory; carbon clearance

## PENDAHULUAN

SISTEM pertahanan tubuh berperan untuk melakukan berbagai proses non-spesifik dan spesifik untuk menolak, mencegah dan menghancurkan bibit infeksi yang masuk ke dalam tubuh<sup>(1)</sup>. Respons imun yang tidak tepat justru dapat menyebabkan kerusakan sistem imun, seperti hipersensitivitas, autoimunitas, ataupun imunodefisiensi<sup>(2,3)</sup>.

Gangguan sistem imun tersebut dapat ditangani dengan pemberian obat-obat tertentu. Beberapa obat bekerja dengan cara menghambat kerja sistem imun, seperti obat golongan antihistamin, antiinflamasi, dan kortikosteroid. Beberapa lainnya bekerja dengan mengaktifasi sistem imun, seperti imunostimulan<sup>(4)</sup>. Meskipun demikian, penggunaan obat-obatan ini dalam jangka panjang dapat menyebabkan efek samping yang tidak diinginkan misalnya penggunaan glukokortikoid dapat menyebabkan tukak lambung; penyembuhan luka yang tertunda; atrofi otot, kulit dan jaringan lemak; osteoporosis; gangguan tidur dan perubahan psikis; dan peningkatan tekanan intraocular. Sedangkan penggunaan antihistamin terutama generasi pertama dapat menimbulkan efek sedasi dan efek mirip antikolinergik<sup>(5,6)</sup>.

Banyaknya efek samping yang diakibatkan oleh obat-obatan tersebut, memicu pengembangan obat berbasis bahan alam. Salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan adalah tanaman keluarga Piperaceae. Tanaman dari keluarga ini tersebar luas di daerah tropis dan sub tropis, dan telah banyak digunakan sebagai tanaman obat. Tanaman ini memiliki banyak kandungan seperti piperin, piperidine, chavicin, protein, cineole, p-cymene, lignin, sesquiterpenes, piperlotine, schimiditin dan carvone. Kandungan minyak atsiri seperti terpenes, phellandrene, caryophyllene, piperonal-dihydrocarbeol dan caryophyllene oxide juga ditemukan dalam jumlah besar dalam tanaman ini. Kegunaan tanaman ini juga beragam seperti antifungi, antibakteri, antiinflamasi, antiameba, antiplatelet, insektisida, antioksidan, sitotoksik, antiplasmodial, dan khasiat lainnya<sup>(7)</sup>.

Keluarga Piperaceae berpotensi untuk dikembangkan menjadi immunomodulator. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa tanaman dari keluarga ini memiliki kemampuan dalam memodulasi sistem imun. Piperin dalam *P.longum* diketahui memiliki aktivitas sebagai imunostimulan, dengan meningkatkan leukosit total dengan meningkatkan proliferasi sel punca pada proses hematopoiesis di sumsum tulang. Efek lain pada sistem imun adalah melalui peningkatan titer antibodi yang berperan

pada imunitas humoral<sup>(8)</sup>. Di lain sisi, *P.betle* justru menunjukkan aktivitas sebagai immunosupresan dengan menekan aktivitas imun selular dan humoral, yang mengindikasikan potensi tanaman dalam penyakit autoimun<sup>(9)</sup>.

Kemukus (*P.cubeba*), kisureuh (*P.aduncum*), dan cabe jawa (*P.retrofractum*) juga merupakan tanaman dalam keluarga piperaceae yang banyak tersebar di daerah Jawa Barat. Beberapa penelitian menunjukkan kemukus (*P.cubeba*) menunjukkan aktivitas sebagai antioksidan<sup>(10)</sup>, antiulcer<sup>(11)</sup> antibakteri, antifungi (*C. albicans*), hepato-protector<sup>(11,12)</sup>, antisitotoksik<sup>(13)</sup>, nefroprotektif<sup>(14)</sup> dan antiparasit<sup>(15)</sup>. Kisureuh (*P.aduncum*) memiliki aktivitas sebagai insektisida<sup>(16)</sup>, antibakteri<sup>(17)</sup>, dan efek lainnya. Sedangkan cabe jawa (*P.retrofractum*) secara tradisional buahnya digunakan sebagai stimulan, karminatif, antihipertensi, relaksan otot, larvasida<sup>(18)</sup>, aprodisiak<sup>(19)</sup>, antibakteri, antifungi, dan aktivitas lainnya.

Tidak seperti tanaman lain dalam keluarga piperaceae yang telah banyak diteliti potensinya sebagai immunomodulator, penelitian terhadap kemukus (*P.cubeba*), kisureuh (*P.aduncum*), dan cabe jawa (*P.retrofractum*) masih sangat terbatas. Berdasarkan masalah tersebut peneliti tertarik untuk mengkaji aktivitas immunomodulator dari ekstrak etanol beberapa tanaman keluarga Piperaceae, yaitu kemukus (*P.cubeba*), kisureuh (*P.aduncum*), dan cabe jawa (*P.retrofractum*) pada mencit galur Balb/c dengan metode *carbon clearance*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian merupakan penelitian *true experimental*, dilakukan di Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Bandung pada bulan Maret-November 2017. Simplisia tanaman kemukus (*Piper cubeba*) dan cabe jawa (*Piper retrofractum*) diperoleh dari salah satu toko herbal di Bandung, Kisureuh (*Piper aduncum*) didapatkan dari daerah Garut, Jawa Barat. Ketiga tanaman tersebut sudah diuji kebenarannya melalui determinasi dari Sekolah Tinggi Ilmu Hayati Institut Teknologi Bandung. Protokol penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Bandung No. 19/KEPK/PE/V/2017

### Alat dan bahan

Bahan yang digunakan : Buah kemukus (*Piper cubeba*), Kisureuh (*Piper aduncum*) dan cabe jawa (*Piper retrofractum*), etanol 96% (Brataco®), aquadest, pewarna Giemsa, NaCl fisiologis, Na-CMC, larutan dapar fosfat, asam asetat 1% dan mencit putih jantan galur Balb/C dengan berat 20-35 gram

Alat yang digunakan : spektrofotometer UV-Vis

(Mercks Spectroquant® Pharo 300)

### Prosedur kerja

Uji Bersihan Karbon : Mencit dibagi menjadi 12 kelompok. Tiap kelompok terdiri dari 3 ekor mencit jantan. Hewan dikelompokkan sebagai berikut: kelompok 1 (NaCMC (2%)), kelompok 2 (suspensi ekstrak etanol buah kemukus dosis 2,8 mg/20gbb), kelompok 3 (suspensi ekstrak etanol buah kemukus dosis 5,6 mg/20gbb), kelompok 4 (suspensi ekstrak etanol buah kemukus dosis 11,2 mg/20gbb), kelompok 5 (suspensi ekstrak etanol buah kiseureh dosis 2,8 mg/20gbb), kelompok 6 (suspensi ekstrak etanol buah kiseureh dosis 5,6 mg/20gbb), kelompok 7 (suspensi ekstrak etanol buah kiseureh dosis 11,2 mg/20gbb), kelompok 8 (suspensi ekstrak etanol buah cabe jawa dosis 3 mg/20gbb), kelompok 9 (suspensi ekstrak etanol buah cabe jawa dosis 6 mg/20gbb), kelompok 10 (suspensi ekstrak etanol buah cabe jawa dosis 12 mg/20gbb), kelompok 11 (suspensi immunosupresan metilprednisolon), kelompok 12 (suspensi imunostimulan fitofarmaka).

Setiap kelompok diberikan sediaan secara oral satu kali sehari selama 6 hari berturut-turut. Setelah pemberian suspensi sampel pada masing-masing kelompok, ujung ekor mencit dilukai dan darah ditampung pada plat tetes yang ditambahkan Na-EDTA hingga homogen. Darah diambil 25µl dan dilisis dengan 4 ml asam asetat 1%. Contoh darah pertama ini dipakai sebagai blanko (menit ke-0). Kemudian 0,1 ml/10 g BB suspensi karbon disuntikkan secara intravena pada bagian ekor, darah mencit diambil 25µl selama menit ke 3, 6, 9, 12, dan 15 setelah penyuntikkan. Masing-masing darah dilisis dengan 4 ml asam asetat 1% dan diukur serapannya pada panjang gelombang 650 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Konstanta fagositosis (K) dan indeks fagositosis (IF) dengan menggunakan rumus :

$$(K) = \frac{\log A(n) - \log A(n-1)}{t(n-1) - t(n)}$$

dimana:

K : Konstanta fagositosis

A : Absorbansi

T : Waktu (3, 6, 9, 12 dan 15)

n : Periode pengambilan (1, 2, 3, 4)

$$(IF) = \frac{\text{Konstanta Fagositosis mencit Z}}{\text{Konstanta Fagositosis kelompok kontrol}}$$

dimana:

- IF : Indeks fagositosis dari tiap kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol.
- Mencit Z: Mencit yang telah diperlakukan dan

ditentukan harga konstanta fagositosis

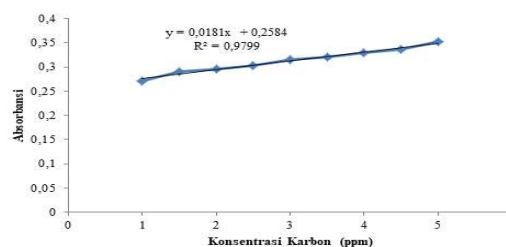
Penghitungan Jumlah Sel Leukosit: Sebanyak 1 ml darah diteteskan pada kaca objek lalu diratakan dengan kaca objek lain untuk memperoleh lapisan darah homogen, ditunggu hingga kering, lalu ditetesi metanol dibiarkan 5 menit, kemudian ditetesi larutan Giemsa (yang sudah diencerkan dengan air suling) sebanyak 10 tetes dan dibiarkan 20 menit, dibilas dengan aquadest mengalir dan dikering-anginkan. Kemudian dihitung jumlah sel eosinofil, neutrofil batang, neutrofil segmen, basofil, limfosit, dan monosit di bawah mikroskop perbesaran 100x dengan menggunakan minyak imersi.

Penghitungan Sel Limfosit dan Monosit Limpa: Ditimbang 50 mg limpa dari mencit yang telah dikorbankan, kemudian disuspensikan ke dalam 3 mL larutan dapar fosfat pH 7,4. Suspensi limpa diambil sebanyak 20 µL dan diteteskan di atas kaca objek, lalu dibiarkan mengering. Setelah itu difiksasi dengan metanol selama dua menit, kemudian dibilas dengan aquadest dan dikering-anginkan. Untuk pewarnaan, preparat yang telah difiksasi lalu diwarnai dengan cara meneteskan pewarna Giemsa sebanyak 5 tetes yang sebelumnya telah diencerkan dengan aquadest 1:10. Dibiarkan kontak selama 30 menit, lalu dibilas dengan aquadest, kemudian dikering-anginkan. Preparat yang telah diwarnai, dihitung jumlah limfosit dan monositnya di bawah mikroskop perbesaran 100x dengan menggunakan minyak imersi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen ekstrak yang diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96 % untuk *P. aduncum*, *P. cubeba*, dan *P. retrofractum* adalah masing-masing sebesar 19,50%, 10,81%, dan 8,49%.

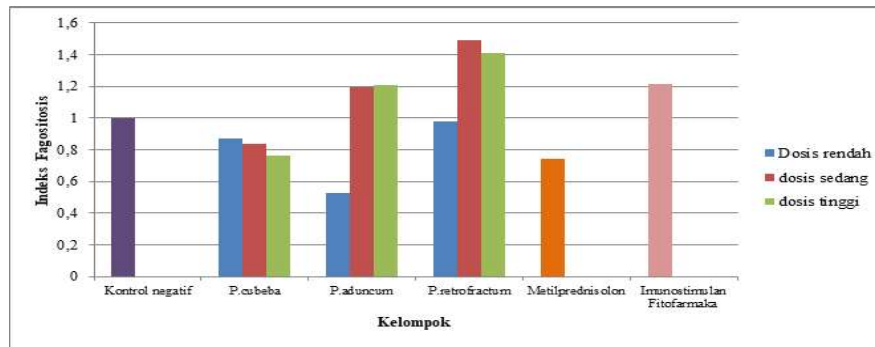
Sebelum dilakukan pengujian, terlebih dahulu dilakukan pembuatan kurva kalibrasi yang bertujuan untuk memastikan akurasi metode yang digunakan. Kurva kalibrasi karbon dalam matriks darah dapat dilihat pada Gambar 1. Nilai R<sup>2</sup> yang didapat adalah 0.9799. Hal ini menunjukkan bahwa metode



Gambar 1. Uji Akurasi karbon (ppm) dalam matriks darah hewan

Tabel 1. Konstanta Fagositosis Setiap Kelompok Selama Perlakuan

Kelompok	(log A(n)-Log A(n1))/3					Konstanta Fagositosis (K)
	3	6	9	12	15	
Kontrol negatif	0.0138	-0.0047	0.0066	0.0058	0.0050	<b>0.0053</b>
<i>P. cubeba</i> dosis rendah	0.0279	-0.0168	-0.0089	0.0228	-0.0019	<b>0.0046</b>
<i>P. cubeba</i> dosis sedang	0.0015	0.0025	0.0065	0.0115	0.0001	<b>0.0044</b>
<i>P. cubeba</i> dosis tinggi	-0.0048	0.0167	0.0089	-0.0098	0.0092	<b>0.0041</b>
<i>P. aduncum</i> dosis rendah	0.0038	0.0096	0.0034	0.0043	-0.0072	<b>0.0028</b>
<i>P. aduncum</i> dosis sedang	0.0247	-0.0093	0.0057	0.0015	0.0089	<b>0.0063</b>
<i>P. aduncum</i> dosis tinggi	0.0007	0.0143	-0.0081	0.0177	0.0075	<b>0.0064</b>
<i>P. retrofractum</i> dosis rendah	0.0189	0.0093	-0.0092	0.0020	0.0050	<b>0.0052</b>
<i>P. retrofractum</i> dosis sedang	0.0006	0.0118	-0.002	0.0101	0.0186	<b>0.0079</b>
<i>P. retrofractum</i> dosis tinggi	0.0106	0.0082	0.0036	0.0090	0.0061	<b>0.0075</b>
Metilprednisolon	-0.0021	0.0061	0.0101	0.0026	0.0021	<b>0.0039</b>
Imunostimulan fitofarmaka	0.0063	0.0121	0.0132	0.0180	-0.0174	<b>0.0064</b>



Gambar 2. Indeks Fagositosis setiap Kelompok Perlakuan

pengukuran karbon akurat dan dapat digunakan untuk pengujian *carbon clearance*.

Aktivitas immunomodulator ditunjukkan oleh nilai konstanta fagositosis. Nilai konstanta fagositosis yang tinggi menunjukkan aktivitas senyawa sebagai immunostimulan, sedangkan nilai rendah menunjukkan kecenderungan senyawa bersifat immunosupresan. Nilai konstanta fagositosis masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan nilai konstanta tertinggi ditunjukkan oleh kelompok *P. retrofractum* dosis sedang, lebih tinggi dibanding pembeding immunostimulan fitofarmaka dengan nilai masing-masing 0.0078 dan 0.0064. Nilai konstanta fagositosis paling rendah ditunjukkan oleh kelompok *P. aduncum* dosis rendah ( $K=0.0028$ ), lebih rendah dibanding pembeding metilprednisolon ( $K=0.0039$ ). Konstanta fagositosis antar kelompok kemudian dibandingkan dengan kontrol negatif (normal) sehingga didapatkan indeks fagositosis yang ditunjukkan oleh Gambar 2.

Kemukus (*P. cubeba*) menunjukkan aktivitas immunosupresan yang meningkat seiring peningkatan dosis. Semakin tinggi dosis kemukus, meningkat pula efek immunosupresan yang disebabkan. *P. cubeba* juga menurunkan kadar neutrofil darah tepi. Kelompok

*P. cubeba* dosis tinggi memiliki rata-rata kadar neutrofil paling rendah di antara seluruh kelompok uji. Neutrofil merupakan komponen leukosit yang akan memberikan respon awal pada reaksi imun, penekanan pada jumlah dan fungsi neutrofil dapat menurunkan sistem imun non spesifik secara keseluruhan. Penelitian ini menunjukkan adanya potensi kemukus (*P. cubeba*) sebagai immunosupresan. Penelitian lain menunjukkan efek *P. cubeba* pada proses *downregulation* sitokin proinflamasi, seperti TNF- $\alpha$  and IL-6 sehingga dapat menurunkan reaksi inflamasi pada hewan coba<sup>(11)</sup>.

Kisereuh (*P. aduncum*) memiliki efek immunomodulator, dimana pada dosis rendah memiliki efek immunosupresan, sedangkan pada dosis sedang dan tinggi memiliki efek immunostimulan. Hubungan dosis-respon yang tidak linear juga ditemukan pada penelitian lain yang menyatakan bahwa peningkatan dosis *P. aduncum* tidak memberikan efek yang searah dengan efek antiinflamasi, antigenotoksik, dan antitumor dari *P. aduncum*. Peningkatan kadar tannin yang terekstraksi dapat memberikan efek antinutrisional, dimana tannin dapat membentuk kompleks dengan komponen makanan lain dan menurunkan absorpsi senyawa aktif lain dari *P. cubeba*<sup>(20)</sup>. Namun demikian, *P. aduncum* dosis

Tabel 2. Kadar Komponen Leukosit Darah Tepi

Kelompok	Kadar Komponen Leukosit Darah Tepi (%)				
	Eosinofil	Neutrofil	Basofil	Limfosit	Monosit
Kontrol Negatif	-	36.33±4.16	-	52.00±5.57	11.67±4.51
<i>P. cubeba</i> Dosis Rendah	-	38.67±4.04	-	56.00±2.65	5.33±2.31
<i>P. cubeba</i> Dosis Sedang	-	40.33±2.08	-	53.67±2.52	6.00±2.00
<i>P. cubeba</i> Dosis Tinggi	1.33±1.15	30.67±2.52	-	61.00±2.65	7.00±1.00
<i>P. aduncum</i> Dosis Rendah	0.67±0.58	37.00±11.27	-	53.33±17.67	9.00±7.21
<i>P. aduncum</i> Dosis Sedang	-	37.00±7.81	-	58.00±9.64	5.00±2.65
<i>P. aduncum</i> Dosis Tinggi	-	38.33±5.51	-	55.33±4.04	6.33±1.53
<i>P. retrofractum</i> Dosis Rendah	0.33±0.58	44.00±2.00	-	51.67±1.53	3.67±1.53
<i>P. retrofractum</i> Dosis Sedang	0.67±0.58	59.67±4.04	-	33.67±3.51	6.00±1.73
<i>P. retrofractum</i> Dosis Tinggi	0.33±0.58	44.67±11.59	-	46.67±13.58	8.33±2.52
Metilpredinisolon	0.33±0.58	35.33±3.06	-	59.33±6.11	5.00±2.65
Imunostimulan fitofarmaka	-	34.33±4.51	-	61.67±7.77	4.00±3.46

Tabel 3. Kadar Komponen Leukosit Limpa

Kelompok	Kadar Komponen Leukosit (%)				
	Eosinofil	Neutrofil	Basofil	Limfosit	Monosit
Kontrol Negatif	1.33±0.58	14.00±5.00	-	81.00±8.00	3.67±2.52
<i>P. cubeba</i> Dosis Rendah	-	16.33±1.15	-	81.33±0.58	2.33±0.58
<i>P. cubeba</i> Dosis Sedang	0.67±0.58	8.33±4.16	-	86.33±3.79	4.67±0.58
<i>P. cubeba</i> Dosis Tinggi	1.00±0.00	14.00±3.46	-	81.00±3.61	4.00±1.00
<i>P. aduncum</i> Dosis Rendah	1.00±0.00	13.67±9.29	-	82.67±9.29	2.67±1.53
<i>P. aduncum</i> Dosis Sedang	0.67±0.58	5.33±2.52	-	91.00±3.61	3.00±1.00
<i>P. aduncum</i> Dosis Tinggi	0.67±0.58	3.00±3.61	-	93.00±6.93	3.33±3.21
<i>P. retrofractum</i> Dosis Rendah	-	4.33±5.13	-	94.00±5.00	1.67±1.15
<i>P. retrofractum</i> Dosis Sedang	0.67±0.58	12.00±8.19	-	83.00±9.85	4.33±1.15
<i>P. retrofractum</i> Dosis Tinggi	0.67±1.15	6.00±2.00	-	88.00±3.61	5.33±4.51
Metilpredinisolon	1.67±0.58	12.33±2.08	-	80.00±6.56	6.00±4.36
Imunostimulan fitofarmaka	0.33±0.58	9.33±4.73	-	87.00±1.73	3.33±2.52

rendah memberikan aktivitas immunosupresan yang paling baik diantara seluruh kelompok dengan indeks fagositosis 0.5, artinya *P. aduncum* dosis rendah mampu menurunkan fagositosis sel sebesar 50% dari respon normal. *P. aduncum* sangat berpotensi sebagai immunodepresan yang bermanfaat untuk banyak kondisi seperti inflamasi kronis, autoimun, kondisi lainnya. Namun demikian, penelitian lebih lanjut harus dilakukan untuk memahami secara spesifik mekanisme kerja *P. aduncum* dalam memodulasi sistem imun.

Berbeda dengan dua tanaman family Piperaceae lainnya, *P. retrofractum* cenderung menunjukkan aktivitas immunostimulan. Aktivitas immunostimulan *P. retrofractum* dosis sedang bahkan lebih tinggi dibanding kelompok pembanding immunostimulan fitofarmaka dengan indeks fagositosis mencapai 1.5. *P. retrofractum* juga meningkatkan kadar neutrofil darah tepi yang berperan penting dalam proses fagositosis. Hal ini sejalan dengan penelitian lain yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak *P. retrofractum*

meningkatkan neutrofil secara bermakna pada tikus yang diberi diet kuning telur<sup>(21)</sup>.

Satu hari setelah pemaparan antigen, darah tepi hewan coba diambil dan dibuat apusan untuk dihitung eosinofil, neutrofil, basofil, limfosit, dan monositnya. Kadar masing-masing komponen sel darah putih dapat dilihat pada Tabel 2. Pada penelitian ini, dilakukan juga perhitungan leukosit dalam suspensi limpa. Hitung jenis masing-masing komponen leukosit limpa dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2 menunjukkan kadar Eosinofil darah tepi tertinggi dicapai oleh kelompok *P. cubeba* dosis tinggi; kadar neutrophil tertinggi dicapai oleh kelompok *P. retrofractum* dosis sedang dan terendah pada kelompok *P. cubeba* dosis tinggi; kadar limfosit tertinggi dicapai oleh kelompok pembanding immunostimulan fitofarmaka, dan terendah pada kelompok *P. retrofractum* dosis sedang; dan kadar monosit tertinggi dicapai oleh kelompok kontrol negatif dan terendah pada kelompok *P. retrofractum* dosis rendah.

Tabel 4. Analisis Korelasi Variabel Leukosit dengan Aktivitas Fagositosis

Variabel		Sig. (p)	Kekuatan Korelasi (r)	Interpretasi
Konstanta Fagositosis	Darah Tepi			
	Eosinofil	0.274	-0.216	Lemah
	Neutrofil	0.012*	0.701	Kuat
	Limfosit	0.049*	-0.552	Sedang
	Monosit	0.404	-0.089	Sangat lemah
Konstanta Fagositosis	Limpa			
	Eosinofil	0.209	-0.289	Lemah
	Neutrofil	0.068	-0.507	Sedang
	Limfosit	0.102	0.439	Sedang
	Monosit	0.324	0.165	Sangat lemah

Tabel 3 menunjukkan kadar eosinofil limpa tertinggi dicapai oleh kelompok pembanding metilprednisolon; kadar neutrofil tertinggi dicapai oleh kelompok *P.cubeba* dosis rendah dan terendah pada kelompok *P.aduncum* dosis tinggi; kadar limfosit tertinggi dicapai oleh kelompok *P.retrofractum* dosis rendah, dan terendah pada kelompok pembanding metilprednisolon; dan kadar monosit tertinggi dicapai oleh kelompok pembanding metilprednisolon dan terendah pada kelompok *P.retrofractum* dosis rendah.

Untuk mengetahui faktor yang mempengaruhi aktivitas fagositosis, dilakukan analisis korelasi antara komponen leukosit darah tepi dan limpa dengan konstanta fagositosis. Hasil analisis korelasi dapat dilihat pada tabel 4. Tidak dilakukan analisis terhadap basofil, dikarenakan tidak ditemukan basofil pada darah tepi maupun suspensi limpa.

Tabel 4 menunjukkan bahwa peningkatan kadar neutrofil dalam darah tepi berkorelasi kuat dengan peningkatan aktivitas fagositosis, dan penurunan kadar leukosit (ditunjukkan dengan arah korelasi negatif) berkorelasi sedang dengan peningkatan aktivitas fagositosis.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa secara umum, peningkatan komponen granulosit memiliki korelasi yang kuat dengan aktivitas fagositosis karbon. Komponen granulosit, terdiri dari neutrofil, basofil, dan eosinofil, merupakan sistem imun non spesifik. Peningkatan kadar neutrofil pada darah tepi berkorelasi kuat dengan aktivitas fagositosis. Neutrofil merupakan komponen leukosit yang dikenal juga sebagai *polymorphonuclear* (PMN) karena bentuknya yang beragam. Neutrofil merupakan leukosit yang paling banyak dijumpai pada darah tepid an merupakan lini pertama pada pertahanan tubuh terhadap pathogen infeksius, seperti bakteri, fungi, dan protozoa. Neutrofil merupakan leukosit yang pertama bermigrasi dari darah ke area yang terinfeksi untuk membunuh dan memfagositosis patogen<sup>(22)</sup>.

## SIMPULAN

Ekstrak etanol kemukus (*Piper cubeba*) memiliki aktivitas imunomodulator sebagai immunosupresan, dimana peningkatan dosis meningkatkan efek immunosupresan. Ekstrak etanol kiseureh (*Piper aduncum*) dosis 2,8 mg/20gbb memiliki aktivitas imunomodulator sebagai immunosupresan, sedangkan pada dosis 5,6 mg/20gbb dan 11,2 mg/20gbb memiliki kecenderungan sebagai immunostimulan. Ekstrak etanol cabe jawa (*Piper retrofractum*) memiliki aktivitas imunomodulator sebagai immunostimulan, dengan aktivitas tertinggi dicapai pada dosis 5,6 mg/20gbb. Ekstrak etanol kemukus (*Piper cubeba*), kiseureh (*Piper aduncum*), dan cabe jawa (*Piper retrofractum*) mempengaruhi jumlah komponen granulosit darah tepi terutama aktivitas neutrofil untuk proses fagositosis.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami ucapkan kepada pihak Poltekkes Kemenkes Bandung yang telah memberikan bantuan dana penelitian. Tidak ada konflik kepentingan dalam penyusunan naskah publikasi ini..

## DAFTAR PUSTAKA

- Katzung B. Farmakologi Dasar dan Klinik. VI. Jakarta: ECG; 2011.
- Krisna SB. Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. 5th ed. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2010.
- Global Asthma Network. The Global Asthma Report 2014. Vol. 5. 2014. 14-16 p.
- Lerner A, Jeremias P, Matthias T. The World Incidence and Prevalence of Autoimmune Diseases is Increasing. Int J Celiac Dis. 2016;3(4):151-5.
- Hall PD, Weimert NA. Function and Evaluation of the Immune System. In: DiPiro JT, Talbert RL,

- Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM, editors. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. 7th ed. New York: McGraw Hill; 2008. p. 1417–30.
6. Skidgel RA, Erdos EG. Autocoids : Drug Therapy of Inflammation. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, editors. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. New York: McGraw Hill; 2012.
  7. Ghosh R, Darin K, Nath P, Deb P. An Overview of Various Piper Species for Their Biological Activities. *Int J Pharma Res Rev*. 2014;3(1):67–75.
  8. Nahak G, Sahu RK. Phytochemical Evaluation and Antioxidant activity of Piper cubeba and Piper nigrum. *J Appl Pharm Sci*. 2011;01(08):153–7.
  9. Alsaïd M, Mothana R, Raish M, Al-Sohaibani M, Al-Yahya M, Ahmad A, et al. Evaluation of the effectiveness of Piper cubeba extract in the amelioration of CCl<sub>4</sub>-induced liver injuries and oxidative damage in the rodent model. *Biomed Res Int*. 2015; 2015.
  10. Pachpute AP, Deshmukh TA, Jagdishprasad S, Tibrewal J. Antioxidant and Hepatoprotective Activity of an Ethanol Extract of Piper cubeba Fruits. *Int J Res Dev Pharm Life Sci*. 2013;2(2):321–9.
  11. Graidist P, Martla M, Sukpondma Y. Cytotoxic Activity of Piper cubeba Extract in Breast Cancer Cell Lines. *Nutrients*. 2015;7:2707–18.
  12. Ahmad QZ, Jahan N, Ahmad G, Tajuddin. Nephroprotective Effect of Kabab Chini (Piper cubeba) in Gentamycin- Induced Nephrotoxicity. *Saudi J Kidney Dis Transplant*. 2017;23(4):1–7.
  13. Esperandim VR, Ferreira DS, Rezende KCS, Magalhaes LG, Souza JM, Pauletti PM, et al. In Vitro Antiparasitic Activity and Chemical Composition of the Essential Oil Obtained from the Fruits of Piper cubeba. *Planta Med*. 2013;79:1653–1655.
  14. Syahroni YY, Prijono D. Aktivitas Insektisida Campuran Ekstrak Buah Piper aduncum (Piperaceae) dan Sapindus rarak (Sapindaceae) terhadap Larva *Crocidolomia pavonana*. *J Entomol Indones*. 2013;10(1):39–50.
  15. Brazao MA, Brazao F, Maia JG, Monteiro M. Antibacterial activity of the Piper aduncum oil and dillapiole, its main constituent , against multidrug-resistant strains. *Boletín Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromáticas*. 2014;13(July):517–26.
  16. Chansang U, Zahir NS, Bansiddhi J, Boonruad T, Thongsrirak P, Mingmuang J, et al. Mosquito larvicidal activity of aqueous extracts of long pepper (*Piper retrofractum* Vahl) from Thailand. *J Vector Ecol*. 2005;30(2):195–9.
  17. Rahmawati N, Bachri MS. The aphrodisiac effect and toxicity of combination Piper retrofractum L, *Centella asiatica*, and *Curcuma domestica* infusion. *Aphrodisiac Eff Infus*. 2012;3(1):19–22.
  18. Kanjwani DG, Marathe TP, Chiplunkar S V, Sathaye SS. Evaluation of Immunomodulatory Activity of Methanolic Extract of Piper betel. *Scand J Immunol*. 2008;67:589–93.
  19. Vaidya A, Rathod M. An In Vitro Study of The Immunomodulatory Effects of Piper nigrum (Black pepper) and *Elettaria cardamomum* (cardamom) Extracts Using a Murine Macrophage Cell Line. *Am Int J Res Formal, Appl Nat Sci*. 2014;8(1):18–27.
  20. Finato AC, Fraga-silva TF, Uliana A, Prati C, Mazzeu BF, Felipe LG, et al. Crude Leaf Extracts of Piperaceae Species Downmodulate Inflammatory Responses by Human Monocytes. *PLoS One*. 2018;13(6):1–14.
  21. George A, Chinnappan S, Choudhary Y, Bommu P, Sridhar M. Immunomodulatory Activity of An Aqueous Extract of *Polygonum minus* Huds on Swiss Albino Mice Using Carbon Clearance Assay. *Asian Pacific J Trop Dis*. 2014;4(5):398–400.
  22. Dashputre NL, Naikwade NS. Immunomodulatory Activity of *Abutilon indicum* Linn on Albino Mice. *Int J Pharma Sci Res*. 2010;1(3):178–84.