

Aktivitas Peningkatan Fagositosis Sel Makrofag oleh Ekstrak Etanol Buah *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen Pada Mencit Yang Distimulasi Antigen Mtb

Esti Badia¹, Sri Samrina Yulianti¹, Nirwati Rusli¹, Asriullah Jabbar³, Muhammad Hajrul Malaka³, Idin Sahidin³, Muhammad Ilyas Y.^{2,3*}

¹Program Studi D3 Farmasi, Politeknik Bina Husada Kendari

²Program Studi D3 TLM, Politeknik Bina Husada Kendari

³Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo Kendari

Sitasi: Badia, E., Yulianti, S. S., Rusli, N., Jabbar, A., Malaka, M. H., Sahidin, I., & Ilyas Y., M. (2024). Aktivitas Peningkatan Fagositosis Sel Makrofag oleh Ekstrak Etanol Buah *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen pada Mencit yang Distimulasi Antigen Mtb. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 10(2), 601–609.
<https://doi.org/10.35311/jmpi.v10i2.649>

Submitted: 02 Oktober 2024

Accepted: 29 November 2024

Published: 21 Desember 2024

*Penulis Korespondensi:

Muhammad Ilyas Y.

Email:

ilyasyusufmuhammad.apt@gmail.com



Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

ABSTRAK

Peningkatan aktivitas fagositosis sel makrofag sangat dibutuhkan oleh penderita penyakit tuberkulosis (TB) untuk melawan invasi patogenitas dari bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) dan mengatasi keparahan infeksi sehingga pengobatan akan lebih optimal. Pengoptimalan fagositosis sel makrofag dengan pemberian imunostimulator dari tumbuhan seperti buah *Etlingera rubroloba* A.D Poulsen penting diungkap. Buah diyakini sebagai imunostimulator berdasarkan penggunaan empiris oleh masyarakat Sulawesi Tenggara untuk memelihara daya tahan tubuhnya serta menyembuhkan penyakit infeksi demam typhoid, dan secara ilmiah terbukti sebagai imunomodulator, antiinflamasi dan antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah membuktikan aktivitas buah *E. rubroloba* meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag pada penyakit TB. Jenis penelitian ini eksperimental menggunakan 30 ekor mencit jantan yang terdiri dari kelompok normal (tanpa infeksi Mtb), kelompok negatif (Na.CMC 0.5% + infeksi Mtb), kelompok positif (ekstrak meniran komersial + infeksi Mtb), kelompok ekstrak dosis 200 mg/kg BB + infeksi Mtb, kelompok ekstrak dosis 300 mg/kg BB + infeksi Mtb, kelompok ekstrak dosis 400 mg/kg BB + infeksi Mtb. Hewan uji diberikan perlakuan selama 7 hari dan pada hari ke-8 diinfeksi antigen Mtb (Esat-6) secara intra peritonium. Peningkatan fagositosis sel makrofag dihitung dengan mikroskop, selanjutnya data yang diperoleh dianalisis statistik one way ANOVA dan uji post hoc tukey. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol buah *E. rubroloba* terbukti meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag pada mencit distimulasi Mtb yang berbeda signifikan dengan kontrol negatif ($P < 0.05$). Penelitian ini berhasil mengungkap informasi ilmiah baru dari tumbuhan *E. rubroloba* sebagai imunostimulator pada infeksi TB, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai agen imunostimulator baru pada penyakit TB.

Kata Kunci : Buah *Etlingera rubroloba*, Fagositosis Makrofag, Imunomodulator, Tuberkulosis, Antigen Esat-6

ABSTRACT

Increased phagocytic activity of macrophage cells is needed by patients with tuberculosis (TB) disease to fight the pathogenic invasion of *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) bacteria and overcome the severity of infection so that treatment will be more optimal. Optimizing macrophage cell phagocytosis by administering immunostimulators from plants such as the fruit of *Etlingera rubroloba* A.D Poulsen is important to uncover. The fruit is believed to be an immunostimulator based on empirical use by the people of Southeast Sulawesi to maintain their immune system and cure typhoid fever infection. It is scientifically proven as an immunomodulator, anti-inflammatory, and antioxidant. The purpose of this study was to reveal the potential of *E. rubroloba* fruit to increase the phagocytic activity of macrophage cells in TB disease. This type of research is experimental using 30 male mice consisting of a normal group (without Mtb infection), negative group (Na. CMC 0.5% + Mtb infection), positive group (commercial meniran extract + Mtb infection), 200 mg/kg BW dose extract group + Mtb infection, 300 mg/kg BW dose extract group + Mtb infection, 400 mg/kg BW dose extract group + Mtb infection. Test animals were treated for 7 days and on the 8th day were infected with Mtb antigen (Esat-6) intra peritoneum. The increase in macrophage cell phagocytosis was calculated by microscopy, and then the data obtained were analyzed statistically one way, using ANOVA and Tukey post hoc test. The results showed that ethanol extract of *E. rubroloba* fruit was proven to increase macrophage cell phagocytosis activity in Mtb-stimulated mice which was significantly different from the negative control ($P < 0.05$). This study succeeded in revealing new scientific information about the *E. rubroloba* plant as an immunostimulator in TB infection, so it has the potential to be developed as a new immunostimulatory agent in TB disease.

Keywords : *Etlingera rubroloba* fruit, Phagocytosis of macrophage, Immunomodulator, Tuberculosis, Esat-6 antigen

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) masih merupakan masalah kesehatan utama di Indonesia yang

disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), menyerang paru-paru, dan organ tubuh lainnya dengan tingkat morbiditas dan mortalitas masih

cukup tinggi (Siregar *et al.*, 2021). Berdasarkan data Global Tuberculosis Report 2022, Indonesia menempati urutan kedua tertinggi setelah India untuk kasus TB di dunia pada tahun 2021 dibandingkan dengan tahun 2020 peringkat ke tiga dunia (Ghebreyesus & Kasaeva, 2022).

Prevalensi penyakit TB di Indonesia masih cukup tinggi dan cenderung mengalami peningkatan dibandingkan tahun 2019 dan 2020 (Fawzi, 2020). Peningkatan kasus TB setiap tahunnya salah satu penyebabnya adalah ada kelainan fungsi sistem imun seseorang sehingga rentan terinfeksi TB. Sistem imun yang melemah menyebabkan Mtb lebih mudah menginfeksi dan menimbulkan kasus baru penyakit TB setiap tahunnya (Fauziah *et al.*, 2020 ; Ilyas Y *et al.*, 2023).

Upaya yang dilakukan sistem imun non spesifik dalam mengatasi invasi patogen yaitu dengan cara menghancurkan melalui proses fagositosis sel makrofag. Makrofag yang terinfeksi Mtb merespon dengan mensekresi sitokin pro-inflamasi seperti *interleukin-12* (IL-12) (Ramadanti *et al.*, 2019). Selanjutnya dapat mengaktifasi sel natural killer (NK) secara langsung atau melalui stimulasi oleh IL-12 yang diproduksi makrofag. Sel NK yang aktif oleh stimulasi IL-12 memproduksi sitokin *interferon- γ* (IFN- γ) yang akan mengaktifasi makrofag dan meningkatkan eradikasi bakteri Mtb melalui aktivitas fagositosis, sehingga fungsi fagositosis penting untuk dioptimalkan pada penderita TB (Hikmah & Triastuti, 2022 ; Ilyas *et al.*, 2021).

Sel makrofag bertanggung jawab memusnahkan sel yang terinfeksi patogen melalui perannya sebagai sel fagosit profesional, sehingga sangat dibutuhkan perannya pada kondisi infeksi bakteri Mtb oleh penderita TB. Aktivitas fagositosis makrofag terhadap bakteri Mtb dapat ditingkatkan dengan zat-zat yang bersifat imunomodulator (Y. M. Ilyas *et al.*, 2022), sehingga proses penyembuhan akibat infeksi lebih cepat bila fungsi sistem imun tubuh dalam kondisi optimal. Permasalahan penggunaan imunomodulator dari bahan sintesis jangka panjang sering kali mengakibatkan efek samping yang tidak diinginkan seperti gangguan pencernaan, pusing, demam, konstipasi, dan meningkatkan kadar asam urat (Hidayah & Indradadi, 2020). Oleh karena itu diperlukan imunomodulator dari bahan alam untuk mengurangi resiko tersebut.

Senyawa-senyawa dari bahan alam dilaporkan terbukti memodulasi sistem imun, sehingga saat ini para peneliti bahan alam sangat

antusias mengeksplorasi berbagai tumbuhan yang memiliki potensi sebagai agen imunomodulator (M. Ilyas, Firdayanti, & Wahyuni, 2019; Hikmah & Triastuti, 2022). Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai agen imunomodulator adalah *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen. Tumbuhan ini tergolong baru ditemukan dan banyak dijumpai di daerah Sulawesi Tenggara serta digunakan secara empiris oleh masyarakat setempat untuk menjaga kebugaran tubuh, menyembuhkan infeksi demam typhoid, infeksi pasca persalinan (Jabbar, Wahyuni, *et al.*, 2024).

Beberapa hasil penelitian yang pernah dilaporkan terkait aktivitas farmakologi dari *E. rubroloba* yaitu fraksi etil asetat dari buah sebagai imunomodulator (Ilyas *et al.*, 2021). ekstrak dan isolat dari buahnya terbukti menurunkan pro inflamasi sitokin IL-12, meningkatkan ekspresi TLR-2 dan HLA-DR pada DM terinfeksi TB (Ilyas Y *et al.*, 2023) meningkatkan ekspresi molekul CD4 dan kadar IL-12 (Y *et al.*, 2022; Y. M. Ilyas *et al.*, 2022), ekstrak buahnya meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag pada mencit diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* (Malik *et al.*, 2022); ekstrak buah berefek imunostimulator dengan meningkatkan sitokin Interferon-gamma dan ekspresi limfosit T sitotoksik (CD8) (Y, Malik, & Jabbar, 2023; Y., Diantini, Ghazali, & Sahidin, 2021), memiliki efek antioksidan dan antiinflamasi (Jabbar *et al.*, 2022).

Menurut penelitian oleh Y. M. Ilyas *et al.*, (2022) buah *E. rubroloba* berdasarkan hasil skrining fitokimia mengandung metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, dan terpenoid. Senyawa yang dilaporkan terbukti memiliki kemampuan meningkatkan fungsi sistem imun adalah senyawa flavonoid dan alkaloid berdasarkan kerjanya merangsang sel imunokompeten memproduksi IFN- γ dan mempengaruhi aktivasi SMAF (*Specific macrophage arming factor*) merupakan molekul-molekul yang memproduksi IFN- γ sebagai activator kuat bagi sel makrofag dalam melakukan fagositosis (Y, Malik, & Jabbar, 2023).

Berdasarkan pakta ilmiah yang telah dipaparkan sebelumnya tentang keanekaragaman efek farmakologi dari tumbuhan *E. rubroloba* terutama sebagai imunomodulator sudah banyak dilaporkan oleh peneliti sebelumnya, namun sampai saat ini, peningkatan fagositosis sel makrofag pada model terinfeksi TB belum pernah dilaporkan, sehingga peneliti perlu mengungkap pakta ilmiah baru peran ekstrak buah *E. rubroloba* dalam meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag pada model infeksi Mtb secara *in vivo*.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah *rotary vacuum evaporator* (Buchi®), mikroskop elektrik (Olympus®), autoklaf (Daihan Lab Tech®), Oven (Inaco®), erlenmeyer (Pyrex®), timbangan analitik (Precisa®), Spektrofotometer 20-D (Thermo Spectronic®), kuvet, gelas ukur (Pyrex®), gelas kimia (Pyrex®), inkubator (Memmert®), botol vial, *water bath* (Stuart®), *laminar air flow* (LAF) (E-Scientific®), mesin sentrifugasi (Boeco®), bunsen, pipet tetes, pipet ukur, mikropipet, batang pengaduk, botol gelap, toples, cawan porselin, kaca preparat, kaca objek, ose bulat, spoit (OneMed®), magnetik stirer, dan kandang tikus.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak buah *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen, mencit jantan (*Mus musculus*), antigen Mtb (Esat-6), kapas, *tissue*, aluminium foil, etanol 96%, alkohol 70%, kertas saring, akuades, Na.CMC 0,5% (*Food Grade*®), NaCl fisiologis, *phosphate buffered saline* (PBS), *nutrient agar* (NA) (Merck®), dan ekstrak meniran komersional (*Stimuno*®).

Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel berupa buah *E. rubroloba* yang dikumpulkan dari Desa Punggaluku, Kecamatan Laeya, Kabupaten Konawe Selatan. Buah dikumpulkan, dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari yang dilapisi kain hitam agar keringnya merata, kemudian dihaluskan hingga diperoleh serbuk simplisia (Ilyas Y et al., 2021_IJPR). Serbuk tersebut kemudian ditimbang dan diperoleh bobotnya, kemudian dilanjutkan dengan proses ekstraksi maserasi.

Determinasi Sampel

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui apakah sampel penelitian benar merupakan tumbuhan *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen. Determinasi dilakukan di laboratorium pendidikan Biologi fakultas Pendidikan dan Keguruan Universitas Halu Oleo.

Ekstraksi

Ekstraksi buah *E. rubroloba* dilakukan dengan metode maserasi sebanyak 2,8 kg serbuk simplisia dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam. Perbandingan 1 : 2 (jumlah pelarut yang digunakan dua kali dari jumlah serbuk simplisia). Setiap 1 x 24 jam dilakukan penyaringan dan penggantian pelarut baru. Filtrat dikumpulkan dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak ditimbang untuk mengetahui

bobotnya (Asriullah Jabbar *et al.*, 2023; Jabbar, Y, Wahyuni, *et al.*, 2024).

Karakterisasi Ekstrak

Karakterisasi yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi penetapan kadar air, kadar abu total, kadar sari larut air, dan kadar sari larut etanol, penetapan kadar total flavonoid dan fenolik total. Karakterisasi ini dilakukan dengan tujuan untuk menjamin keseragaman mutu ekstrak agar memenuhi persyaratan standar ekstrak (Fikayuniar *et al.*, 2023 ; Y, Malik, & Jabbar, Y, Saehu, Ertin, Irma, & Nurhikma, 2021).

Pengujian Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag

Sebanyak 24 ekor mencit jantan sehat dibagi menjadi 6 kelompok secara acak. Dan diberi perlakuan setiap hari sekali selama 7 hari peroral sesuai volume pemberian (M. Y. Ilyas *et al.*, 2020) dengan ketentuan masing-masing yaitu kelompok normal tanpa perlakuan, kontrol negatif diberikan Na.CMC 0,5 %, kontrol positif diberikan *stimuno*®, ekstrak dosis 200, ekstrak dosis 300, ekstrak dosis 400 (mg/kg BB).

Pada hari ke delapan setiap mencit (kecuali kelompok normal) diinfeksi dengan 0,2 mL antigen Esat-6 secara intraperitoneal, dibiarkan selama 2 jam. Selanjutnya mencit diautansi dengan ketamin lalu dibedah perutnya dengan menggunakan gunting bedah dan pinset steril. Jika ditemukan cairan peritoneum dalam jumlah sedikit pada perut, maka ditambahkan larutan *phosphate buffered saline* (PBS) pH 7,8 steril sebanyak 1 mL, digoyang-goyangkan secara perlahan kemudian diambil cairan peritoneum dengan spoit 1 cc. Cairan peritoneal dipulas pada gelas obyek dan difiksasi dengan metanol selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan pewarnaan giemsa 10%, didiamkan 20 menit, dibilas dengan air mengalir. Setelah sediaan kering, dilihat di bawah mikroskop menggunakan minyak emersi dengan perbesaran (100x-1000x) (Adryan Fristiody et al., 2019; Wahyuni *et al.*, 2019). Penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan komisi etik penelitian kesehatan LPPM UHO nomor: 3574/UN29.20.1.2/PG/2023.

Menghitung aktivitas fagositosis

Peningkatan aktivitas fagositosis sel makrofag peritonium hewan uji dilakukan dengan menghitung nilai persentase sel makrofag yang aktif melakukan fagositosis antigen Mtb dalam 100 sel makrofag (M. Ilyas, Firdayanti, & Wahyuni, 2019; Y et al., 2022). Persamaan yang digunakan yaitu:

$$\text{Aktivitas fagositosis} = \frac{\text{Jumlah Sel Makrofag Aktif}}{\text{Jumlah Sel Makrofag Total}} \times 100 \%$$

Analisis data

Metode analisis data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode *Analysis of Variance* (ANOVA) *one-way*, dengan taraf kepercayaan 95% dan tingkat signifikansi (tingkat kesalahan 5% ($\alpha = 0,05$) (M. Y. Ilyas *et al.*, 2020). Data diolah menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Product and Service Solution*). Analisis aktivitas fagositosis menggunakan metode ANOVA *one-way* dengan syarat terdistribusi normal, dengan taraf kepercayaan 95% dan tingkat signifikansi (tingkat kesalahan 5% ($\alpha = 0,05$). ANOVA *One-Way* digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan efek karena perlakuan yang berbeda antar 6 kelompok. Perbedaan dinyatakan signifikan apabila $p < 0,05$ (Y *et al.*, 2022).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Sampel

Determinasi tumbuhan *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen dilakukan untuk memastikan spesies tumbuhan yang digunakan juga agar terhindar dari kesalahan dalam pengumpulan sampel penelitian (Mahmudah *et al.*, 2023 ; Y, Bambang, *et al.*, 2024). Determinasi sampel dilakukan di laboratorium pendidikan Biologi, Universitas Halu Oleo. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tumbuhan yang diteliti merupakan tumbuhan *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen.

Ekstrak

Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 80,6 gram dengan nilai rendemen sebanyak 4,01%. Rendemen merupakan perbandingan berat kering ekstrak yang dihasilkan dengan berat ekstrak. Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir (berat ekstrak yang dihasilkan) dengan berat awal dikali 100% (Jabbar, Y, Hamzah, & Puji, 2024; Mahmudah *et al.*, 2023).

Karakterisasi ekstrak

Karakterisasi ekstrak buah *E. rubroloba* dilakukan sebagai upaya untuk menjamin bahwa ekstrak mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan terlebih dahulu (Fikayuniar *et al.*, 2023). Tujuan dari standarisasi yaitu untuk menjaga stabilitas dan keamanan, serta mempertahankan konsistensi kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia maupun ekstrak (Y, Saehu, Ertin, Irma, & Nurhikma, 2021). Penentuan karakteristik ekstrak yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi parameter spesifik (kadar sari larut etanol dan kadar sari larut air) dan parameter non spesifik (kadar abu dan kadar air). Hasil Karakterisasi ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi ekstrak etanol buah *E. rubroloba*

No.	Jenis Karakterisasi	Hasil karakterisasi (%)
1	Kadar Air	7.33 %
2	Kadar Abu	5.56%
3	Kadar Sari Larut Air	56.3%
4	Kadar Sari Larut Etanol	67.48%

Penentuan kadar air dilakukan untuk mengetahui mutu dan daya tahan ekstrak terhadap pertumbuhan jamur, dimana semakin sedikit kadar air pada ekstrak maka semakin kecil kemungkinan ekstrak terkontaminasi oleh pertumbuhan jamur (Ilyas *et al.*, 2021). Kadar air dalam sediaan obat tradisional termasuk ekstrak tidak boleh melebihi batas yaitu 10%. Kadar air yang melebihi 10% dapat mengakibatkan ekstrak akan mudah ditumbuhi jamur (Mahmudah *et al.*, 2023).

Berdasarkan hasil karakterisasi kadar air ekstrak buah *E. rubroloba* adalah 7,33%. Hasil ini telah sesuai dengan persyaratan dimana kadar air tidak melebihi 10%. Penentuan kadar abu bertujuan untuk mengetahui kandungan mineral yang terdapat dalam ekstrak dan untuk mengontrol jumlah kontaminan anorganik seperti tanah, pasir dan debu yang kemungkinan terikut dalam sediaan nabati

(Ilyas, *et al.*, 2019). Prosesnya melalui pemanasan sampai terbentuk abu yang mengindikasikan yang tersisa adalah unsur mineral dan zat anorganik, dimana kadar abu ideal ekstrak tidak lebih dari 7% (Fikayuniar *et al.*, 2023). Berdasarkan hasil karakterisasi kadar abu ekstrak buah *E. rubroloba* diperoleh nilai kadar abu sebesar 5,56% yang menunjukkan bahwa ekstrak tidak tercemar logam-logam dan telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan.

Penentuan kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui banyaknya komponen simplisia yang dapat disari oleh air maupun etanol, Penentuan kadar sari tersebut sangat penting, karena dapat memberikan gambaran mengenai besarnya senyawa terlarut dan merupakan bagian yang dimanfaatkan sebagai bahan obat (Anggraeni, 2020). Hasil yang diperoleh pada

pengujian kadar sari larut etanol yaitu sebesar 67,48% dan kadar sari larut air yaitu sebesar 56,3 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa jumlah senyawa polar yang dapat terlarut dalam air lebih kecil daripada jumlah senyawa kurang polar (semi polar maupun non polar) yang dapat terlarut dalam etanol (Wahyuni *et al.*, 2019).

Efek Peningkatan Fagositosis Sel Makrofag oleh Ekstrak Buah *E. rubroloba*

Pengujian peningkatan aktivitas fagositosis sel makrofag secara *in vivo* pada mencit model infeksi TB dengan antigen Esat-6 bertujuan mengungkap peran dari ekstrak buah *E. rubroloba*. Pengujian aktivitas imunomodulator pada penelitian ini dilakukan dengan tiga variasi dosis yaitu dosis 200, 300 dan 400 (mg/kg BB). Pemilihan variasi dosis ini didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Ilyas *et al.*, (2021), dimana hasil penelitian dosis 200, 300 dan 400 (mg/kg BB) menunjukkan peningkatan aktivitas fagositosis pada mencit yang diinfeksi bakteri *S.aureus*. Oleh karena itu, pada penelitian ini, menggunakan tiga variasi dosis yang sama, untuk mengungkap efek peningkatan fagositosis pada infeksi bakteri Mtb setelah diberikan ekstrak buah *E. rubroloba* sehingga dapat menambah data ilmiah baru dari tumbuhan tersebut untuk dikembangkan sebagai imunostimulator pada penyakit TB.

Imunomodulator pembanding atau sebagai kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstrak komersial meniran (*Phyllanthus niruri* L.). Meniran salah satu imunomodulator yang telah teruji secara klinik dan praklinik dapat meningkatkan fungsi sistem imun Hasil identifikasi meniran menunjukan bahwa ekstrak etanol herba meniran mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid dan tannin (Hikmah & Triastuti, 2022).

Senyawa yang berperan sebagai imunomodulator pada meniran adalah flavonoid, dengan meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Proliferasi limfosit akan mempengaruhi sel CD4, kemudian sel Th1 teraktivasi (Y *et al.*, 2022) flavonoid juga dimungkinkan dapat memicu proliferasi dan diferensiasi sel T dan sel B yang diduga melalui produksi sitokin IL-2, IL-4, dan IL-1, flavonoid jenis flavonol (kuersetin) dapat menjadi imunostimulan yang dapat memacu peningkatan IL-2 (Yuliasatri, Diantini, Ghozali, Sahidin, & Isrul, 2021).

Pada pemberian sediaan uji yang diberikan selama 7 hari bertujuan untuk memberikan waktu bagi sampel untuk menstimulasi dan mengoptimalkan fungsi respon imun non spesifik pada hewan uji (M. Y. Ilyas *et al.*, 2020). Pada hari ke

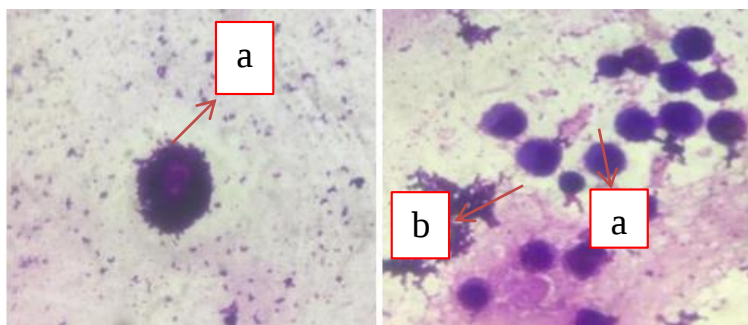
8, hewan coba diinfeksi dengan antigen Mtb sebanyak 0,5 mL secara intraperitoneal. Infeksi dengan rute ini lebih efektif dalam menginfeksi organ bagian dalam. Di daerah peritoneal lebih banyak mengandung sel-sel polimorfonuklear dan makrofag (M. Ilyas, Firdayanti, & Wahyuni, 2019).

Tujuan penginfeksi antigen Mtb adalah sebagai antigen yang dapat dikenali oleh makrofag, melalui reseptor *toll like receptor-2* (TLR-2) (M. Y. Ilyas *et al.*, 2023). Selanjutnya makrofag akan bergerak ke sumber infeksi untuk melakukan proses fagositosis (memakan pathogen penyebab infeksi) (Y, Sukweenadhi, *et al.*, 2023). Proses fagositosis makrofag ini juga dibantu oleh sel NK (*natural killer*) yang bekerjasama dengan makrofag, sel NK akan merangsang produksi *interferon-γ* (Y, Malik, & Jabbar, 2023).

Untuk mengamati makrofag aktif dan tidak aktif dilakukan pewarnaan giemsa, sehingga memudahkan mengidentifikasi berbagai sel granulosit dan sel-sel darah lainnya, menghasilkan gambaran inti yang jelas, dan lebih tahan lama dalam penyimpanan pada iklim tropis dibandingkan perwarna lain seperti Wright (Ilyas Y *et al.*, 2021). Hasil dari pewarnaan giemsa pada inti sel makrofag yang ditandai dengan warna menjadi ungu kebiruan (M. Y. Ilyas *et al.*, 2020). Aktivitas fagositosis sel makrofag ditandai dengan bentuk dan ukuran sel yang bertambah besar dengan penjurulan pseudopodi yang sangat bervariasi.

Fagosomnya muncul membran yang menjadi lebih berliku-liku, lisosom menjadi lebih banyak, aparat golgi membesar dan retikulum endoplasma kasar berkembang (Y *et al.*, 2022; Ilyas Y *et al.*, 2021). Perbedaan antara makrofag aktif dan tidak aktif dapat dilihat pada Gambar 1 yang merupakan apusan darah tipis yang diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x.

Hasil pengamatan preparat apus cairan intraperitoneal hewan uji yang dilakukan di bawah mikroskop (Gambar 1) menunjukan sel makrofag aktif berbentuk amoeboid (tidak beraturan), ukuran inti relatif lebih besar dengan penjurulan pseudopodi yang sangat bervariasi, fagosomnya muncul membran yang menjadi lebih berliku-liku, lisosom menjadi lebih banyak, aparat golgi membesar dan retikulum endoplasma kasar berkembang, sedangkan sel yang tidak aktif tampak bulat dengan ukuran inti sel lebih kecil. Aktivitas fagositosis makrofag setelah perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 1 . Aktivitas Fagositosis (Perbesaran 1000x) (a) Makrofag Aktif, (b) Makrofag Tidak Aktif

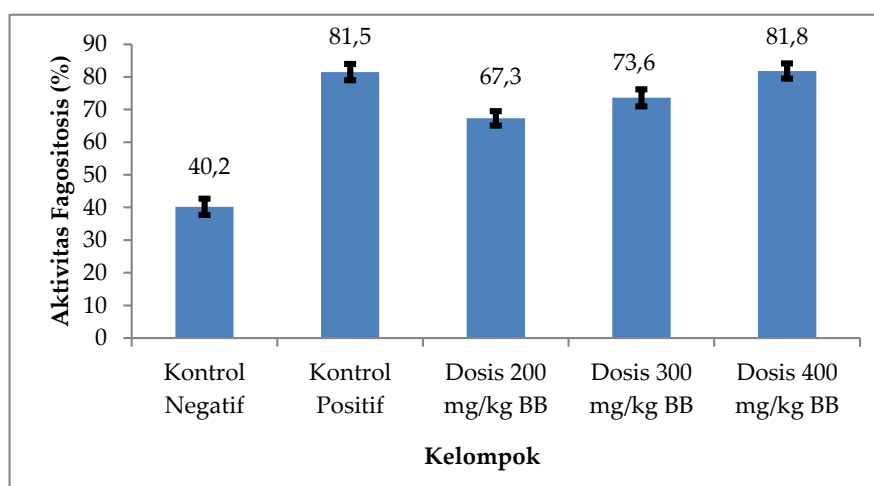
Tabel 2. Hasil Presentase Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag

No.	Kelompok / Perlakuan	Aktivitas Fagositosis (%)				Rata-Rata Aktivitas Fagositosis (%)	± SD
		1	2	3	4		
1	Kontrol negatif	40	40	40	41	40.2	2.5
2	kontrol positif	80	83	81	82	81.5	2.5
3	Dosis 200 mg/kg BB	67	68	67	67	67.3	2.2 ^{ab}
4	Dosis 300 mg/kg BB	73	73	73	75	73.6	2.6 ^{ab}
5	Dosis 400 mg/kg BB	81	82	83	81	81.8	2.3 ^{ac}

Keterangan: (a) berbeda signifikan dengan kontrol negatif ($p < 0.05$), (b) berbeda signifikan dengan kontrol positif ($p < 0.05$), (c) Tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif ($p > 0.05$)

Berdasarkan tabel 2 dapat dijelaskan bahwa pemberian ekstrak buah *E. rubroloba* pada ke tiga dosis terbukti meningkatkan aktivitas fagositosis pada hewan uji yang distimulasi antigen Mtb, yang berbeda signifikan dengan kontrol negatif ($p < 0.05$), dimana persentase tertinggi aktivitas fagositosis

ditunjukkan oleh dosis ekstrak 400 mg/kg BB, dan tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif ($p > 0.05$). Hasil rata-rata peningkatan aktivitas fagositosis sel makrofag oleh ekstrak buah *E. rubroloba* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 : Grafik rata-rata aktifitas Fagositosis sel Makrofag tiap kelompok perlakuan

Peningkatan aktivitas fagositosis sel makrofag pada hewan uji mencit yang distimulasi antigen Mtb oleh ekstrak buah *E. rubroloba* disebabkan adanya peran kadungan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak buah *E. rubroloba* yaitu flavonoid, tannin, terpen, alkaloid dan saponin (Ilyas Y *et al.*, 2021). Kandungan flavonoid memiliki kemampuan sebagai imunomodulator dengan mempengaruhi aktivasi SMAF (*Specific macrophag arming factor*) dimana SMAF ini merupakan

molekul-molekul yang memproduksi IFN- γ .

Senyawa flavonoid yang mampu merangsang produksi IFN- γ (Malik *et al.*, 2022). Flavonoid berpotensi bekerja terhadap limfokin yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis (Wahyuni *et al.*, 2019). Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa flavonoid dapat direspon dengan baik oleh sistem imun tubuh, sehingga memacu peningkatan sekresi sitokin yang dihasilkan

oleh sel-sel imunokompeten, antara lain interleukin-1 dan interleukin-6 yang membantu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Saponin merupakan senyawa kimia yang dapat meningkatkan aktivitas sistem imun tubuh, dan mempunyai sifat anti bakteri dan anti virus (Y., Diantini, Ghozali, & Sahidin, 2021).

Metabolit sekunder golongan senyawa alkaloid diduga memiliki kemiripan peran sitokin IFN- γ dalam mempertahankan respon kekebalan tubuh dan meningkatkan respon imun nonspesifik dalam bentuk peningkatan responsivitas leukosit atau respon imun spesifik untuk mengaktifkan makrofag untuk melakukan fungsinya dalam melakukan fagositosis agen infeksius yang memasuki tubuh (Priyani, 2020; Y, Malik, & Jabbar, 2023). Tanin dapat berperan sebagai imunostimulator dengan membantu mengoptimalkan fungsi sistem imun, dengan meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag dalam menghancurkan mikroba (Hikmah & Triastuti, 2022).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol buah *Etlingera. rubroloba* A.D Poulsen terbukti meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag mencit yang distimulasi antigen Mtb, sehingga hasil temuan penelitian ini sebagai referensi ilmiah baru yang diungkap dari efek farmakologi tumbuhan tersebut, yang dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen imunomodulator pada pasien TB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterimakasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Vokasi, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi, atas hibah Penelitian Dosen Pemula (PDP) tahun anggaran 2024. Laboratorium Farmakologi dan Farmakognosi Politeknik Bina Husada Kendari atas dukungan fasilitas yang diberikan sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeni, R. (2020). Uji Karakteristik Simplisia Buah Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium* DC.), *JIFI (Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda)*, 3(2), Pp. 32–38. Available At: <https://doi.org/10.52943/jifarmasi.V3i2.210>.
- Asriullah Jabbar, Sahidin, I., Malik, F., Muhammad Ilyas, Y., Rusli, N., Apriyanto, Qadar. (2023). Evaluation of xanthine oxidase inhibitory activity of sinapyl alcohol diacetate and stigmasterol compounds and phytochemical screening stem of *Etlingera*. *Food Research*, 7(4), 101–105.
- Fauziah, P.N., Mahmudah, M. And Gamarani, A.

- (2020) 'Hasil Pemeriksaan Kadar Cd4 Dan TCM Genexpert Mtb Pada Pasien Ko-Infeksi TB-HIV Di Rsud Budhi Asih Jakarta', *Anakes : Jurnal Ilmiah Analis Kesehatan*, 6(2), Pp. 144–150. Available At: <https://doi.org/10.37012/Anakes.V6i2.365>.
- Fawzi, N.I. (2020) 'Analisis Program Dots Untuk Menurunkan Kasus Tuberculosis Di Sekitar Taman Nasional Gunung Palung, Kalimantan Barat', *Jurnal Kesehatan*, 13(1), Pp. 25–30. Available At: <https://doi.org/10.32763/Juke.V13i1.175>.
- Fikayuniar, L. Et Al. (2023) 'Skrinning Fitokimia Serta Uji Karakteristik Simplisia Dan Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Dengan Berbagai Metode', *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 2023(15), Pp. 308–320. Available At: <https://doi.org/10.5281/Zenodo.8208374>.
- Fristiohady, A., Wahyuni, W., Malik, F., Leorita, M., Yusuf, M. I., Febriansyah, H., & Sahidin, S. (2019). Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Spons Terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag Pada Mencit Jantan *Xestospongia* *Sp* Galur Balb/C. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 5(1), 15–30. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v5i01.38>.
- Ghebreyesus, T. A., & Kasaeva, T. (2022). Global Tuberculosis Report 2022. Jenewa, Swiss.
- Hidayah, I. And Indradadi, R.B. (2020) 'Review Artikel: Aktivitas Imunomodulator Beberapa Tanaman Dari Suku Zingiberaceae', *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan Dan Farmasi*, 20(2), P. 181. Available At: <https://doi.org/10.36465/Jkbth.V20i2.610>.
- Hikmah, U. And Triastuti, A. (2022) 'Mechanism And Immunomodulator Bioactive Compounds Of *Phyllanthus Niruri* (Meniran) Mekanisme Dan Senyawa Bioaktif Imunomodulator *Phyllanthus Niruri* (Meniran)', *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal Of Pharmacy)*, 18(2), Pp. 205–218. Available At: <http://journal.uui.ac.id/index.php/JIF>
- Ilyas, M., Firdayanti, & Wahyuni. (2019). Peningkatan Imunitas Non Spesifik (Innate Immunity) Mencit Balb/C Yang Diberi Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Galing (*Cayratia trifolia* L.) Enhancement Of Non Specific Immunity (Innate Immunity) Mice Balb/C Given Ethanol Extract Of Galing Plant (*Cayratia trifolia* L.). *Medical Sains*, 3(2), 83–92.

- Ilyas, M. *et Al.* (2021) 'Aktivitas Immunostimulator Ekstrak Etanol Buah *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen Terhadap Kadar Cd8 Model In Vivo Immunostimulatory Activity Of *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen Fruit Ethanol Extract Against Cd8 Levels In Vivo Model', *Medical Sains*, 6(2), pp. 123–132
- Ilyas, M. Y., Jabbar, A., Bafadal, M., Malaka, M. H., Firdayanti, F., & Sahidin, I. (2020). Aktivitas Immunomodulator Ekstrak Etanol pons *Callyspongia* sp. Terhadap Fagositosis Makrofag Pada Mencit Jantan Balb/C. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 5(1), 44–55. <https://doi.org/10.36387/jiis.v5i1.377>.
- Ilyas, Y. M., Diantini, A., Halimah, E., Amalia, R., Ghozali, M., & Julaeha, E. (2022). Phytochemical Analysis and Immunomodulatory Potential on Diabetic-Infected Tuberculosis by Fruit *Etlingera rubroloba* A . D . Poulsen. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 25(7), 669–675. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2022.669.675>.
- Ilyas Y, M., Diantini, A., Halimah, E., Amalia, R., Ghozali, M., Julaeha, E., & Sahidin, I. (2021). Potential Immunomodulator Fraction Fruit Of *Etlingera rubroloba* A.D Poulsen Against Macrophage Phagocytosis And Interleukin-12 Levels In BCG-Stimulated Balb/C Mice. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1), 3262–3269. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2021.13.01.478>.
- Ilyas Y, M. *et al.* (2023) 'Effect of Immunomodulating Extract and Some Isolates from *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen Fruits on Diabetic Patients with Tuberculosis', *Molecules*, 28(5), pp. 1–15. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules28052401>.
- Jabbar, A., Malik, F., Y, M. I., Qadar, J., Hamzah, H., Utami, S., & Pratiwi, T. (2024). Antihyperuricemia Activity of Etanol Extract of *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen Fruits on Uric Acid and Cyclooxygenase-2 Levels In Vivo. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 17(April), 1627–1631. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2024.00257>.
- Jabbar, A., Sahidin, I., Monstavevi, S. A., Malaka, M. H., Malik, F., & Ilyas, Y. M. (2022). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of Ethanol Extract Stem of *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 25(10), 885–891. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2022.885.891>.
- Jabbar, A., Y, M. I., Wahyuni, Hamzah, H., Windarsih, A., Utami, S.,... Rohman, A. (2024). LC-MS analysis, antioxidant and anti-inflammatory activity, isolation of secondary metabolite of ethanol extract stem of *Etlingera rubroloba* AD Poulsen. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 10 (Desember), 100780. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2024.100780>.
- Jabbar, A., Y, M. I., Hamzah, H., & Puji, A. R. (2024). Acute Toxicity Test of Zebrafish , Antifungal and Antibiofilm Activity of *Etlingera rubroloba* A.D Poulsen against *Candida albicans*. 17(August), 3613–3619. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2024.00564>.
- Mahmudah, R., Yusuf, M.I. and Nur, W.O.I. (2023) 'Uji Efektivitas Antihiperuricemia Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa aloefere* L.) dan Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) pada Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*)', *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 9(2), pp. 532–542. Available at: <https://doi.org/10.35311/jmpi.v9i2.431>.
- Malik, F., Bafadal, M., Munasari, D., Andriani, R., Y, M. I., Fristiohady, A., & Nurfinti, W.O. (2022). Aktivitas Immunomodulator Ekstrak. Etanol. Buah *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen. Terhadap Fagositosis Sel Makrofag Pada Tikus Jantan Galur Wistar. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 8(1), 96–112.
- Priyani R. (2020). Manfaat Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) Terhadap Sistem Imun Tubuh, *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, Vol. 7 (3). <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13611>.
- Ramadanti, R., Soleha, T.U., Maulana, M. (2019). Pengaruh *Euphorbia milii* Terhadap Respon Imunitas pada Infeksi Tuberculosis. *Jurnal Majority*. 8(1), 226–231.
- Siregar, P.A. *et al.* (2021) 'Improvement of Knowledge and Attitudes on Tuberculosis Patients with Poster Calendar and Leaflet', *Journal of Health Education*, 6(1), pp. 39–46. Available at: <https://doi.org/10.15294/jhe.v6i1.42898>.
- Wahyuni, W., Yusuf, M. I., Malik, F., Lubis, A. F., Indalifiany, A., & Sahidin, I. (2019). Efek Immunomodulator Ekstrak Etanol Spons *Melophlus sarasinorum* Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag Pada Mencit Jantan Balb/C. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (E-Journal)*, 5(2), 147–157.

- Y, M. I., Apriyanto, Rasak, A., Ode, L., & Setiawan, R. (2024). Review Article : The Role Of Cluster Of Differentiation-8 (CD8) In The Immune System. *Jurnal Riset Ilmiah*, 1(2), 70–79.
- Y, M. I., Bambang, B., Apriyanto, A., Rasak, A., Jabbar, A., Nasrudin, N., ... Zulkifli Halid. (2024). Evaluasi Morfologi Organ Pankreas Tikus Wistar Model Diabetes Melitus oleh Ekstrak Purifikasi Daun Galing (*Cayratia trifolia* L. Domin) Sebagai Antidiabetes. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 10(1), 280–289.
- Y., M. I., Diantini, A., Ghozali, M., & Sahidin, I. (2021). Aktivitas Immunostimulator Ekstrak Etanol Buah *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen Terhadap Kadar CD8 Model In Vivo (Immunostimulatory Activity Of *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen Fruit Ethanol Extract Against CD8 Levels In Vivo Model). *Medical Sains*, 6(2), 123–132.
- Y, M. I., Diantini, A., Ghozali, M., Sahidin, I., & Fristiohady, A. (2022). Immunomodulatory Potency *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen Fruit Ethanol extract against Macrophage Phagocytic Activity and CD4 Levels in Wistar Male Rats. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 15(September), 4067–4072. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2022.00682>.
- Y, M. I., Malik, F., & Jabbar, A. (2023). Peningkatan Sitokin Interferon Gama Tikus Wistar Setelah Diberikan Ekstrak Etanol Buah *Etlingera rubroloba* A. D. Poulsen Sebagai Immunostimulator. Increased Interferon-Gamma Cytokines In Wistar Rats Treated With *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen Fruits. *Medical Sains*, 8(2), 559–566.
- Y, M. I., Saehu, M. S., Ertin, Irma, & Nurhikma. (2021). Efek Antiinflamasi Fraksi Dari Ekstrak Etanol Batang Galing (*Cayratia trifolia* L.Domin) Secara In Vitro. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, (Desember), 80–88.
- Y, M. I., Sukweenadhi, J., Kustiawan, P. M., Nuswantoro, A., Si, S., Anwar, A. Y., ... Kasiyati, M. (2023). *Imunologi Dasar*. Penerbit CV. Eureka Media Aksara, Jawa Timur.
- Yuliastri, W. O., Diantini, A., Ghozali, M., Sahidin, I., & Isrul, M. (2021). Immunomodulatory activity and phytochemical analysis of *Hibiscus sabdariffa* L. flower fractions. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 11(11), 131–140. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2021.110111>.