

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Makrofag merupakan pertahanan tubuh yang berperan pertama kali melawan benda asing yang masuk ke dalam tubuh, fungsinya dapat berkurang dalam melawan mikroorganisme untuk mengatasi diperlukan suatu senyawa yang dapat meningkatkan sistem imun yaitu agen imunomodulator (Baratawidjaja dan Rengganis 2002). Beberapa senyawa yang terkandung dalam bahan alam mempunyai efek imunomodulator seperti flavonoid, alkaloid dan polifenol karena mampu meningkatkan fagositosis sel makrofag (Rahim, 2017)

Flavonoid dalam ekstrak daun ketepeng cina memiliki potensi sebagai imunomodulator dalam meningkatkan kapasitas fagositosis makrofag (Kusmardi, 2006). Flavonoid meningkat aktivitas IL-12 yang mengaktivasi sel NK, menstimulasi perkembangan sel Th-1 dan mengaktivasi sel T CD 8, ketiga sel diaktivasi akan mempengaruhi SMAF (*Specific Macrophag Arming Factor*) merupakan molekul INF- γ dan mengaktivasi makrofag (Mubayinah, 2015). Alkaloid yang memiliki kemampuan meningkatkan daya tahan tubuh dengan mengaktivasi Th-1 kemudian meningkatkan IFN- γ yang dapat meningkatkan makrofag (Farsely, 2013). Menurut penelitian yang dilakukan wibowo, A. (2006) pemberian kapsul polifenol the hijau 350 mg 2 kali sehari memiliki kemampuan meningkatkan sekresi IL-12 dan IFN- γ yang akan meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag.

Daun kedondong hutan merupakan tanaman yang mengandung flavonoid, terpenoid, alkaloid, saponin, tanin dan polifenol (Jain, 2013 : Gupta, 2010) Penelitian yang dilakukan Das, *at el* (2011). Daun kedondong hutan mempunyai kandungan flavonoid yang tinggi yaitu 80,82%, dengan kandungan senyawa tersebut ada kemungkinan daun kedondong hutan memiliki potensi sebagai imunomodulator dengan melihat indeks dan kapasitas fagositosis makrofag.

Senyawa dapat dikatakan sebagai imunomodulator jika mampu meningkatkan respon imun yang telah terbentuk karena adanya paparan dari suatu antigen (Barawidjaja dan Rengganis, 2012). Vaksin hepatitis B digunakan sebagai antigen untuk mengaktifasi makrofag karena vaksin hepatitis B merupakan antigen permukaan yang cepat dikenali oleh sistem imun dalam tubuh (Hasdiana, 2009). Vaksin hepatitis B dapat membentuk antigen penyaji (APC) melalui major histocompatibility complex (MHC) I pada sel CD8⁺ T atau MHC II pada sel CD8 dengan aktivasi sel T kemudian sel T berproliferasi dan berdiferensiasi yang akan memproduksi sitokin berupa IFN- γ yang akan mengaktifasi makrofag (Radji,2009). Vaksin hepatitis B mengandung HBsAg yang telah dimurnikan yang terbukti aman,imunogenik, dan efektif (Irsan, 2010)

Sejauh ini belum pernah dilakukan penelitian tentang ekstrak daun kedondong hutan sebagai imunomodulator terhadap fagositosis makrofag secara *in vivo* sehingga perlu dilakukan pengujian ekstrak daun kedondong terhadap fagositosis makrofag mencit balb/c yang diinduksi vaksin hepatitis B.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah diuraikan di atas maka perumusan masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol daun kedondong hutan (*Spondias pinnata* (L.f.) Kurz) memiliki aktivitas imunomodulator terhadap indeks dan kapasitas makrofag mencit galur balb/c yang diinduksi vaksin hepatitis B?
2. Senyawa kimia apa yang terkandung dalam ekstrak daun kedondong hutan (*Spondias pinnata* (L.f.) Kurz)?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Membuktikan adanya aktivitas imunomodulator ekstrak etanol daun kedondong hutan (*Spondias pinnata* (L.f.) Kurz) terhadap indeks dan kapasitas fagositosis makrofag pada mencit galur balb/c yang diinduksi hepatitis B.
2. Mengetahui kandungan senyawa aktif daun kedondong hutan (*Spondias pinnata* (L.f.) Kurz).

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat membuktikan daun kedondong hutan memiliki aktivitas imunomodulator dengan meningkatkan fagositosis makrofag. Penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai manfaat daun kedondong dalam meningkatkan sistem imun tubuh. Hasil penelitian ini juga diharapkan sebagai bukti ilmiah pemanfaatan daun kedondong.

E. Tinjauan Pustaka

1. Kedondong

Kedondong merupakan tanaman yang dapat tumbuh di kondisi iklim tropis setiap tempat daun kedondong memiliki nama tersendiri seperti hog plum (Inggris), kedondong (Indonesia dan Malaysia), hevi (Filipina), makak farang (Thailand), gway (Myanmar). Kedondong di Indonesia memiliki nama yang berbeda-beda seperti kedondong (Sunda, Jawa dan Madura), Kecemcem (Bali), inci (Bima dan NTT), kerurung (Makasar) dan kaci (Bugis) (Hutapea, 1994)

a. Klasifikasi Kedondong Hutan

Klasifikasi kedondong hutan menurut Hutapea, J.R., (1991) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Sub Divisi : Angiospermae
 Class : Magnoliopsida
 Ordo : Sapindales
 Family : anacardiaceae
 Genus : Spondias
 Species : *Spondias pinnata* (L.f) Kurz.

b. Morfologi Kedondong Hutan

Kedondong hutan *Spondias pinnata* merupakan pohon yang memiliki tinggi \pm 20 m dengan batang tegak, bulat, berkayu, batang

halus, percabangan simpodial dimana batang pokok sulit ditentukan dan warna putih kehijauan, termasuk tipe daun majemuk berbentuk lonjong. Letak terbesar dengan pangkal runcing, ujung meruncing, petulangan daun menyirip, tepi daun rata, panjang daun 5-8 cm, dan lebar daun 3-5 cm. Kedondong memiliki buah yang berbentuk lonjong berdaging dengan diameter \pm 5 cm, berserat dan berwarna hijau. Akar kedondong hutan (*Spondias pinnata*) merupakan akar tunggang yang berwarna coklat tua (Hutapea, 1994). Daun kedondong hutan (*Spondias pinnata*(L.f.) Kurz) di tunjukan pada Gambar 1.



Gambar 1. Daun kedondong hutan *Spondias pinnata* (L.f) Kurz. (dokumen pribadi)

c. Kandungan dan Khasiat Daun Kedondong Hutan

Daun kedondong mengandung saponin, flavonoid dan tanin (Hutapea 1994). Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol daun kedondong memiliki kandungan flavonoid, triterpenoid, alkaloid dan polifenol (Dwijana, 2013 : Fitriani, 2013). Penelitian yang dilakukan Das, dkk. (2011). Daun kedondong mengandung flavonoid, alkaloid dan saponin.

Kandungan flavonoid dan triterpenoid dalam ekstrak methanol daun kedondong memiliki aktivitas antituberkulosis dan Flavonoid dari ekstrak daun kedondong hutan mampu berikatan dengan HadB sehingga akan menghambat enzim β -hydroxyacyl-ACP dehidratase dan mampu menghambat proteasom *M. tuberculosis* dan mampu meningkatkan aktivitas dari antituberkolosis (Dwijana, 2013 : Gitari, 2017). Ekstrak daun kedondong dengan konsentrasi 8% dan 10% memiliki aktivitas antifungi yang dapat menghambat pertumbuhan *aspergillus flavus* (Fitriani, 2013).

2. Sistem Imun

Sistem pertahanan tubuh manusia digunakan untuk menjaga kita agar dapat beraktivitas seperti biasa ketika ada serangan benda asing dapat berupa mikroorganisme seperti bakteri, parasit dan jamur yang dapat menyebabkan infeksi. Sistem imun akan menghasilkan respon imun (Baratawidjaja dan Rengganis, 2012). Sistem imun dapat dibagi menjadi dua sistem imun spesifik dan non spesifik, sistem imun non spesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam mengatasi serangan berbagai mikroorganisme karena tidak ditujukan terhadap mikroorganisme, makrofag merupakan sistem imun non spesifik (Hasdianah, 2014).

a. Sel Makrofag

Makrofag adalah monosit yang seterusnya hidup dalam jaringan, berbentuk khusus yang tergantung dari alat/jaringan. Makrofag diaktifkan oleh berbagai rangsangan, dapat menangkap, memakan dan mencerna antigen eksogen, seluruh mikroorganisme, partikel tidak larut dan bahan

endogen seperti sel penjamu yang cedera atau mati (Baratawidjaja dan Rengganis, 2012). Makrofag termasuk golongan mononuklear fagosit sistem, yang merupakan suatu sistem yang dulu disebut dengan Reticulo Endotelial System (RES) merupakan istilah bersama untuk sel-sel yang sangat fagositik yang tersebar luas di seluruh tubuh terutama pada daerah yang kaya akan pembuluh darah (Efendi, 2003).

Makrofag terutama berasal dari sel prekursor dari sumsum tulang, dari promonosit yang akan membelah menghasilkan monosit yang beredar dalam darah. Pada tahap kedua monosit bermigrasi ke dalam jaringan ikat tempat mereka menjadi matang dan inilah yang disebut makrofag, di dalam jaringan makrofag dapat berproliferasi secara lokal menghasilkan sel sejenis lebih banyak. Pada penelitian yang terutama menggunakan sel berlabel radioaktif didapatkan bahwa kebanyakan bahkan mungkin semua, sel fagositik ini berasal dari promonosit sel mononuclear yang berasal dari sumsum tulang. Jadi nama yang paling cocok untuk sistem ini adalah sistem fagosit mononuklear atau lebih sederhana sistem makrofag (Efendi, 2003).

b. Fagositosis Makrofag

Fagositosis makrofag adalah suatu istilah yang berarti sel makan dapat dipersamakan dengan pinositosis yang berarti sel minum. Fagositosis merupakan suatu proses atau cara untuk memakan bakteri atau benda asing yang dilakukan setelah benda asing atau bakteri melekat pada permukaan makrofag maka makrofag membentuk sitoplasma dan melekat

ke dalam membungkus bakteri atau benda tersebut. Tonjolan sitoplasma yang saling bertemu itu akan melebur menjadi satu sehingga benda asing atau bakteri akan tertangkap di dalam sebuah vakuol fagositik intra sel. Lisozom yang merupakan suatu sistem pencernaan intra sel dengan kemampuan memecah materi yang berasal dari luar maupun dari dalam. Jadi lisozom akan menyatu dengan vakuol, dengan demikian akan memusnahkan bakteri atau benda asing tersebut (Efendi, 2003).

Banyak sel dalam tubuh yang memiliki kemampuan fagositosis, tetapi sel utama yang berperan dalam pertahanan non spesifik adalah sel mononuclear (monosit dan makrofag) serta sel polinuklear atau granulosit. Sel-sel ini berperan sebagai sel yang mengenal dan menangkap antigen, mengolah selanjutnya mempersentasikannya ke sel T, Makrofag dan monosit berasal dari asal hematopoetik yang sama granulosit hidup pendek, mengandung granul yang berisikan enzim hidrolitik (Baratawidjaya dan Rengains, 2014).

3. Imunomodulator

Imunomodulator adalah obat atau suatu senyawa yang di harapkan mampu mengembalikan dan memperbaiki ketidak seimbangan sistem imun yang fungsinya terganggu atau menekan fungsinya yang berlebihan, Imunorestorasi dan imunostimulasi sering disebut imunopotensiasi atau up regulation, sedangkan imunosupresi disebut down regulation (Baratawidjaja & Rengganis, 2012). Sistem imun yang terganggu dengan memberikan berbagai komponen sistem imun, seperti immunoglobulin dalam bentuk ISG,

HSG, plasma, plasmapheresis, leukopheresis, transparansi sumsum tulang, hati dan timus (Baratawidjaja, 2009).

Imunostimulan atau imunopotensiasi adalah cara memperbaiki fungsi sistem imun dengan merangsang sistem imun. Bahan yang disebut imunostimulator yaitu hormon timus, limfokin, interferon, antibodi monoklonal, ekstrak leukosit, bahan asal bakteri dan jamur juga bahan sintetik seperti levamisol, isoprinosin, muramil dipeptida dan lain-lain (Baratawidjaja, 2009). Agen yang dapat digunakan bertujuan prolififikasi atau promotif seperti imunopotensiasi, imunoterapi, serta pada keadaan pasien *immunocompromized* baik defisiensi imun primer seperti *humoral*, *cellular* atau kombinasi sindrom defisiensi imun maupun defisiensi imun sekunder seperti AIDS, maglinancy, kemoterapi kanker dan pasien yang mendapat steroid (Agrawal and Singh, 1999)

Imunosupresan adalah obat yang digunakan untuk mencegah dan menekan sistem imun biasanya untuk transplan, pengobatan penyakit AI dan penyakit inflamasi non-AI (mengontrol asam dalam jangka lama), imunosupresan memiliki efek samping berupa defisiensi imun yang menurunkan kerentanan tubuh terhadap infeksi dan keganasan, banyak efek samping lain seperti hipersensitifitas, dislipidemia dan tukak lambung (Bratawidjaya dan Rengganis, 2014)

Imunorestorasi merupakan suatu cara mengembalikan sistem imun yang terganggu dengan memberikan berbagai komponen sistem imun seperti:

a) Immunoglobulin dalam bentuk Immune serum globulin (ISG)

Immunoglobulin ini diberikan dalam tindakan imunisasi pasif, diberikan sebagai replacement atau imonorestorasi untuk memperbaiki fungsi sistem imun pada penderita dengan defisiensi imun humoral

b) Hyperimmune Serum globulin (HSG)

Fungsi sama dengan ISG sebagai imonorestorasi yang mengembalikan sistem imun ketika terjadi defisiensi imun humoral

c) Leukophoresis

Leukophoresis adalah pemisahan leukosit secara selektif dari penderitatelah dilakukan dalam usaha terapi penanganan seperti penyakit arthritis rheumatoid (Nurhayati, 2001)

4. Levamisol

Levamisol adalah turunan dari tetramizol, sering digunakan untuk obat cacing utama untuk *Ascaris lumbricoides*, memiliki sifat imunostimulan yang menyebabkan peningkatan kekebalan tubuh. Levamisol mampu meningkatkan proliferasi dan sitotoksitas sel T serta mengembalikan energi pada beberapa penderita kanker. Levamisol dapat meningkatkan efek berbagai bahan seperti antigen, mitogen, limfosit terutama limfosit T bila hipersensitivitas lambat terganggu (Baratawidjaja dan Rengganis, 2012).

Levamisol memiliki rumus molekul $C_{11}H_{12}N_2S$, mempunyai berat molekul (BM) 204,3, merupakan serbuk putih hingga mendekati putih, sedikit larut dalam air dan mudah larut dalam alkohol dan metil alkohol. Levamisol hidroklorida adalah levamisol yang ada dalam perdagangan. Levamisol

hidroklorida mempunyai rumus molekul $C_{11}H_{12}N_2S.HCl$, mempunyai berat molekul 240,8; merupakan serbuk kristal putih hingga mendekati putih; mudah larut dalam air, larut dalam metanol, praktis tidak larut dalam eter, dan sukar larut dalam metilen klorida (Depkes, 1995).

Levamisol merupakan imunomodulator sintetik karena sudah terbukti dapat meningkatkan sistem imun dengan meningkatkan proliferasi dan sitotoksitas sel T. levamisol dapat merangsang makrofag dengan meningkatkan efek berbagai bahan seperti antigen, mitogen dan faktor kemotoksik (Baratawidjaja dan Rengganis, 2002)

5. Antigen dan Vaksin Hepatitis B

Antigen merupakan bahan yang dapat merangsang respon imun atau bahan yang dapat bereaksi dengan antibodi yang sudah ada. antigen dapat di bagi menjadi 2 bagian, pertama imunogen merupakan bahan yang dapat menimbulkan respon imun dan kedua hapten adalah bahan yang dapat bereaksi dengan antibodi. Hapten merupakan determinan antigen dengan berat molekul yang kecil dan baru menjadi imunogen bila di ikat oleh protein pembawa (carrier) besar (bratawijaja, 2002).

Tubuh mempunyai suatu sistem marker glikoprotein yang di kode oleh gen yang biasanya di kenal dengan histocompatibility complex atau biasa di singkat dengan (MHC). MHC memiliki sifat polimorpisme, yang terdapat pada semua individu protein tersebut sangat berperan dalam komunikasi antara sel dan respon imun dalam tubuh, termasuk kemampuan

merespon tipe antigen. Molekul MHC terdiri dari tiga kelas yaitu MHC-1, MHC-II dan MHC-III (Hasdianah., dkk, 2014)

Imunogenitas suatu substansi menunjukkan kemampuan substansi bersangkutan untuk merangsang sistem imun, baik sistem imun seluler maupun sistem imun humoral atau kedua apabila kedua substansi ini di masukan ke dalam tubuh, substansi ini di sebut imunogen. Semua imunogen adalah antigen tetapi tidak semua antigen imunogen. antigen eksogen merupakan suatu antigen yang berasal dari luar tubuh manusia seperti berbagai jenis bakteri, virus dan obat (kresno, 2001). Vaksin merupakan suatu antigen yang di gunakan untuk menghasikan kekebalan aktif terhadap suatu penyakit sehingga dapat mencega atau mengurangi pengaruh terhadap suatu infeksi oleh organisme, vaksin hepatitis B dapat membentuk antigen penyaji (APC) melalui jalur *major histocompatibility complex* (MHC) I pada sel CD8+ T atau MHC II pada sel CD+ T dengan aktivasi sel T yang merangsang imun seluler (Radji, 2009).

F. Landasan Teori

Makrofag merupakan sistem imun non spesifik merupakan pertahanan tubuh pertama kali ketika terpapar berbagai unsur pathogen. Makrofag memiliki fungsi utama yaitu fagositosis poliperasi dan sebagai antigen presenting agen bila fungsi makrofag tidak seimbang dibutuhkan suatu senyawa untuk mengembalikan fungsinya (Bratawijaja, 2002). Beberapa senyawa dari bahan alam mempunyai efek imunomodulator seperti flavonoid, alkaloid dan polifenol karena mampu meningkatkan fagositosis sel makrofag (Rahim, 2017).

Flavonoid dalam ekstrak daun ketepeng cina memiliki potensi sebagai imunomodulator dalam meningkatkan kapasitas fagositosis makrofag (Kusmardi 2006). Flavonoid meningkat aktivitas IL-12 yang mengaktivasi sel NK, menstimulasi perkembangan sel Th-1 dan mengaktivasi sel T CD 8, ketiga sel diaktivasi akan mempengaruhi SMAF (*Specific Macrophag Arming Factor*) merupakan molekul INF- γ dan mengaktivasi makrofag (Mubayinah, 2015). Daun kedondong hutan merupakan tanaman yang mengandung flavonoid, triterpenoid, alkaloid dan polifenol (Dwija, 2013 : Fitriani, 2013). Daun kedondong hutan memiliki potensi sebagai imunomodulator dengan melihat indeks dan kapasitas fagositosis makrofag.

Senyawa dapat dikatakan sebagai imunomodulator jika mampu meningkatkan respon imun yang telah terbentuk karena adanya paparan dari suatu antigen (Baratawidjaja dan Rengganis, 2012). Vaksin hepatitis B digunakan sebagai antigen Vaksin hepatitis B dapat membentuk antigen penyaji melalui jalur *major histocompatibility complex* (MHC) I pada sel CD8+ T atau MHC II pada sel CD+ T dengan aktivasi sel T untuk berproliferasi dan berdiferensiasi dan memproduksi sitokin berupa IFN- γ yang akan mengaktivasi makrofag (Radji, 2009)

G. Hipotesis

Pemberian ekstrak etanol daun kedondong hutan (*Spondias pinnata* (L.f.) Kurz) memiliki aktivitas imunomodulator terhadap indeks dan kapasitas fagositosis makrofag mencit galur Balb/c yang diinduksi vaksin Hepatitis B dan mengandung senyawa flavonoid, polifenol dan alkaloid