

Efek Immunostimulasi Ekstrak Etanol Tubuh Buah Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus* Jacq Fr.Kumm) terhadap Aktivitas Makrofag Mencit (Swiss Webster)

Venny Patricia¹

¹ Akademi Keperawatan Aisyiyah Palembang

Abstrak

Telah dikembangkan produk nutrisi medikal sebagai imunostimulan, Tubuh buah jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus* Jacq Fr.Kumm) dipilih untuk diteliti khasiatnya terhadap respon imun innate. Jamur tiram putih merupakan jamur terbesar ketiga sekitar 25 % dari total jamur didunia yang mudah dikembangkan, karena pembudidayaan yang sederhana. Jamur tiram putih mengandung senyawa pleuran. Pleuran adalah (1-3)- β -D-glucans yang berasal dari polisakarida, yang ditemukan berkhasiat sebagai antitumor dan sebagai imunostimulan melalui aktivasi dari sel makrofag. Tiga dosis jamur tiram yang diuji yaitu 100, 200 dan 400 mg/kg bobot badan yang diberikan secara oral 1x sehari selama 7 hari berturut-turut. Uji efek ekstrak etanol FJTP terhadap respon imun innate dilakukan melalui uji fagositik sistem retikuloendothelium (RES) dengan metode bersihan karbon dan aktivitas fagositik makrofag pada mencit Swiss Webster yang ditekan sistem imunnya dengan metil prednisolon. Ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih dosis 100, 200, 400 mg/kg bb meningkatkan kecepatan eliminasi partikel karbon dengan koefisien regresi (1,187; 1,504; 1,040 vs 1,040, $p < 0,05$) dan indeks fagositik sebesar (1,16, 1,47, 1,02 vs 1,00, $p < 0,05$). Ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih dosis 100, 200 dan 400 mg/kg meningkatkan aktivitas makrofag peritoneal untuk menelan *Escherichia coli* yang ditandai dengan meningkatkan rasio fagositik (95,68; 94,50; 91,85% vs 51,28%, $p < 0,05$), indeks fagositik (3,48; 2,48; 4,06 vs 1,50, $p < 0,05$) dan jumlah leukosit total secara bermakna ($p < 0,05$). Namun tidak berkhasiat meningkatkan indeks organ hati, limpa dan kelenjar timus yang diberi ekstrak dibandingkan terhadap kontrol.

Kata Kunci : Jamur Tiram, macrophage, immunostimulan

Abstract

In term to develop medical nutrition product as an immunostimulant, fruiting body of white oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* Jacq Fr.Kumm) were chosed to study its effect on innate immune system. white oyster mushroom is the third biggest mushroom around 25 % from totalize mushroom is easy developed in the world, because they have simple cultivating. white oyster mushroom contains compound pleuran. Pleuran is (1-3)- β -D-glucans that indigenous from polisakarida, that as antitumor and immunostimulating effect by activation from macrophage. Three doses of white oyster mushroom examined 100, 200 and 400 mg/kg of body weight that given orally daily for a week. Carbon clearance and macrophage activity were used to determine the effect ethanol extracts of white oyster mushroom on innate immune response Swiss Webster mice that its depressed immune system with methyl prednisolon. Those white oyster mushroom extracts (100, 200, 400 mg/kg bw) showed an activity to increase the carbon particle elimination with phagocytic index (1,16, 1,47, 1,02 vs 1,00, $p < 0,05$). White oyster mushroom (100, 200, 400 mg/kg bw) showed macrophage activity to *Escherichia coli* on increasing phagocytic ratio (95,68; 94,50; 91,85% vs 51,28%, $p < 0,05$) and index phagocytic (3,48; 2,48; 4,06 vs 1,50, $p < 0,05$) and the white blood cell counts has significant ($p < 0,05$) compared to the control. No significant changes on liver, spleen and thymus glands of mice treated with the extract compared to the control.

Keywords: Oyster Mushroom, macrophage, immunostimulant

Korespondensi= Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Palembang,
Jl. Jend. Ahmad Yani Talang Banten 13 Ulu Palembang Telp. 0711-520045

Pendahuluan

Suatu penyakit dapat disebabkan oleh tiga faktor yang saling mempengaruhi yaitu sistem imun tubuh manusia, mikroorganisme dan lingkungan sekitar.¹ Dalam upaya pemeliharaan, peningkatan dan pemulihan kesehatan dapat digunakan obat sintetik atau obat tradisional. Sampai saat ini, pemanfaatan tumbuhan obat sebagai obat tradisional masih dilakukan, bahkan ada kecenderungan yang meningkat karena obat alami (Obat Asli Tanaman) dinilai relatif aman dan harganya lebih murah jika dibandingkan dengan obat sintetik. Penggunaan obat tradisional ini didasarkan atas pertimbangan bahwa menurut pandangan sistem pengobatan tradisional, obat-obat yang berasal dari alam termasuk obat nabati dapat mempengaruhi aktivitas sistem imun tubuh.²

Walaupun sudah ada mekanisme pertahanan tubuh yang diperantarai oleh berbagai sistem di dalam tubuh dengan sistem imun adalah sistem yang berperan utama, namun pertahanan tubuh dapat menurun dengan bertambahnya usia dan oleh adanya berbagai penyakit. Oleh karena itu, adanya senyawa-senyawa yang berkhasiat memodulasi sistem imun (imunomodulator), bermanfaat dalam menjaga dan memelihara agar system imun tetap stabil.³ Imunomodulator dapat bekerja sebagai imunosupresi, imunostimulan, dan atau sebagai tolerogen.^{3,4}

Jamur dikenal sebagai makanan yang mengandung nutrisi

tinggi dan banyak mengandung komponen yang berperan untuk pengobatan^{5,6} sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai immunomodulator. Sebagian besar komponen seperti turunan polisakarida dan kompleks protein-polisakarida yang terdapat pada jamur sering digunakan sebagai adaptogen dan imunostimulan. Komponen ini disebut dengan "*biological response modifier*" (BRM). Pemodifikasi respon biologi didefinisikan sebagai agen penolong tubuh untuk beradaptasi dengan lingkungan dengan memodifikasi respons fisiologi tubuh melalui stimulasi sistem imun.⁷

Jamur tiram putih merupakan jamur terbesar ketiga sekitar 25 % dari total jamur didunia yang mudah dikembangkan, karena pembudidayaan yang sederhana.⁸ Berdasarkan strukturnya jamur memiliki dua bagian yang sering dimanfaatkan yaitu miselia dan tubuh buah, dimana memiliki kandungan zat yang sama tetapi berbeda kadarnya. Tubuh buah memiliki kadar kandungan zat yang lebih rendah dari miselia karena komponen bioaktif pada miselia dapat diambil lebih mudah dan lebih banyak melalui kultur fermentasi *submerged*.⁹ Namun komponen polisakarida yang berpotensi sebagai imunostimulan kadarnya lebih banyak terdapat pada tubuh buah daripada pada miselia.¹⁰ Tubuh buah jamur tiram putih didalam masyarakat banyak dikonsumsi sebagai sayuran yang dimakan sehari-hari maka perlu diketahui khasiatnya.

Jamur tiram putih mengandung senyawa pleuran. Pleuran adalah (1-3)- β -D-glucans yang berasal dari polisakarida, yang ditemukan berkhasiat sebagai antitumor dan sebagai imunostimulan melalui aktivasi dari sel makrofag.¹¹⁻¹³ Peneliti lain menemukan bahwa pada dosis 30 dan 100 mg/kg dapat mengurangi tingkat kerusakan mukosa usus pada tikus kolitis.¹⁴ Ekstrak air miselia jamur tiram putih dengan dosis 100 mg/kg memiliki efek imunomodulator yang ditandai dengan meningkatnya kecepatan fagositik partikel karbon yang lebih cepat dengan peningkatan indeks fagositik yang juga bermakna.¹⁵ Pada uji antibakteri secara *in vitro* dengan metode difusi agar, ditemukan juga potensi antibakteri jamur tersebut yang ditandai dengan kemampuan menghambat *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Saccharomyces cerevisiae* sekitar 89,8%.¹⁶

Berdasarkan hasil telaah literatur di atas, dan belum ada penelitian efek pada tubuh buah jamur ini maka akan diteliti efek ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih sebagai imunostimulan terhadap aktivitas makrofag mencit.

Metode Penelitian

Hewan coba.

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit galur swiss webster berumur 6-8 minggu, bobot badan 25-30 g. Sebelum digunakan sebagai hewan percobaan, semua mencit dipelihara terlebih dahulu selama kurang lebih

satu minggu untuk penyesuaian lingkungan, mengontrol kesehatan dan berat badan serta menyeragamkan makanannya.

Ekstraksi Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*)

Jamur tiram putih dibersihkan, diiris tipis-tipis dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 40°C, kemudian digiling halus dengan menggunakan mesin penggiling. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode perkolasi. Serbuk kering dari jamur tiram putih direndam dalam larutan etanol 95% dalam gelas Beker selama 3 jam, kemudian dipindahkan dengan hati-hati ke dalam perkolator sambil ditekan, dan ditambahkan larutan penyari etanol 70%, dan didiamkan selama 24 jam. Perkolat akan menetes dari kran yang telah dibuka. Perkolasi dihentikan jika cairan sudah tidak pekat atau tidak jernih. Perkolat dipisahkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C, dan selanjutnya dikeringkan dengan oven dan diberi aerosil sebanyak 40% sehingga menjadi ekstrak serbuk jamur tiram putih.

Kultur *E. coli*

Escherichia coli yang digunakan adalah *E. coli* standar ATCC 25922 yang diambil dari biakkan pada agar Mc.Conkey. Satu òse koloni *E. coli* diinokulasi ke dalam media cair BHI, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. *E. coli* di mixer selama 15 menit agar homogen dan

kekeruhan diukur setara dengan standar McFarland 0,5.

Perlakuan pada hewan coba

Mencit dibagi ke dalam 6 kelompok perlakuan, yaitu kelompok pemberian ekstrak jamur tiram putih dengan dosis masing-masing sebagai berikut :

- Kelompok I: ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih dosis 400 mg/kg BB
- Kelompok II : ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih dosis 200 mg/kg BB
- Kelompok III : ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih dosis 100 mg/kg BB
- Kelompok IV : Perbandingan menggunakan Zymosan A 10 mg/kg bb
- Kelompok V : kontrol menggunakan Tragakan 0,3% b/v
- Kelompok VI : kontrol normal menggunakan akuades

Uji fagositik retikuloendothelium (RES)

1. Uji Bersihan Karbon

Pada hari ke-7 setelah 6 hari pemberian ekstrak uji, dilakukan uji bersihan karbon dengan cara menyuntikkan suspensi karbon secara intravena melalui pembuluh darah di ekor mencit sebanyak 0,1 ml/10 g mencit. Pada T_0 (sebelum pemberian karbon) dan pada interval 4, 8,12, 16 dan 20 menit setelah penyuntikan karbon dilakukan pengambilan darah sebanyak 25 μ L melalui ekor dan dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi dengan asam asetat 1%

sebanyak 2 mL, kemudian diukur transmittan (% T) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 650 nm. Data yang diperoleh diolah lebih lanjut untuk memperoleh kecepatan eliminasi partikel karbon melalui pembuatan kurva regresi linier antara (100 - %T) dan waktu. Kemiringan garis regresi menunjukkan kecepatan eliminasi partikel karbon. Dengan menggunakan kemiringan garis regresi tersebut selanjutnya dihitung index fagositik yang merupakan perbandingan antara kemiringan garis kelompok uji dan kontrol.

2. Penentuan Indeks Hati, Limpa Dan Timus

Mencit yang telah diberi ekstrak uji selama 7 hari berturut-turut dibedah kemudian diambil hati, limpa, dan timusnya diisolasi dan ditimbang untuk ditentukan persen indeks organnya. Kebermaknaan indeks organ kelompok uji terhadap kontrol ditentukan berdasarkan hasil olah statistik.

Aktivitas fagositik makrofag

1. Penentuan Rasio Fagositik Dan Indeks Fagositik

Setelah pemberian ekstrak selama 7 hari, kemudian mencit disuntik dengan *E. coli*. Kemudian dilakukan isolasi eksudat peritoneal mencit dengan menyuntikkan medium larutan hank ke dalam rongga perut mencit sebanyak 2,5 mL, dan setelah selnya semua turun dari tabung, cairan tersebut disentrifuge 2500 rpm dalam 8-10 menit, dibuang

supernatannya. Sel diendapkan terlebih dahulu setelah itu dibuang supernatant yang masih bersisa. Suspensi diteteskan diatas kaca preparat yang telah disiapkan, dibuat preparat apus dan difiksasi dengan methanol absolute selama 5 menit, diwarnai dengan pewarnaan gram, dibilas dengan air dan dikeringkan. Preparat dilihat dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x. Aktivitas fagositosis ditetapkan berdasarkan persentase fagosit yang melakukan fagositosis dari 200 makrofag.

2. Penentuan Indeks Hati, Limpa Dan Timus

Mencit yang telah diberi ekstrak uji selama 7 hari berturut-turut dibedah kemudian diambil hati, limpa, dan timusnya diisolasi dan ditimbang untuk ditentukan persen indeks organnya. Kebermaknaan indeks organ kelompok uji terhadap kontrol ditentukan berdasarkan hasil olah statistik.

3. Penentuan Jumlah Sel Darah Putih

Mencit yang telah diberi ekstrak uji selama 7 hari berturut-turut, diambil darah sebanyak 10 μ L kemudian dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf yang telah berisi larutan Turk sebanyak 190 μ L. Penghitungan sel darah putih dilakukan dengan meneteskan sel darah yang telah bercampur larutan Turk tersebut ke atas hemositometer. Pengamatan dan penghitungan dilakukan dengan counting chamber menggunakan mikroskop dengan pembesaran 100x.

Implikasi etik penelitian pada hewan coba

Dalam penelitian ini digunakan hewan coba tikus galur Wistar untuk menggantikan manusia, sebab zat atau alat baru tidak boleh digunakan untuk pertama kali pada manusia, kecuali bila sebelumnya telah diuji pada hewan dan diperoleh kesan yang cukup mengenai keamanannya.

Perlakuan hewan percobaan yang digunakan untuk penelitian kesehatan bagi manusia kebanyakan akan mengalami berbagai hal yang tidak menyenangkan bagi hewan tersebut, misalnya hewan akan mengalami : ketidak nyamanan, (*inconvinience*), ketidaksenangan (*discomfort*), Tekanan (*distress*), rasa nyeri (*pain*), mengalami kematian (*death*).

Oleh karenanya, dalam penelitian ini diterapkan prinsip-prinsip perlakuan hewan percobaan sesuai dengan prinsip dasar pertimbangan etik penelitian kesehatan yang memanfaatkan hewan percobaan, yaitu Prinsip 3R:

1. *Replacement/* mengganti hewan percobaan dengan alternatif lain seperti menggunakan sel atau jaringan atau kultur *in vitro* atau hewan invertebrata.

Pada penelitian ini karena dibutuhkan suatu model untuk melihat aktivitas fagositik makrofag *in vivo* yang disuntik dengan karbon/ diinduksi dengan *E. coli* sebagai bakteri uji maka hewan percobaan mencit tidak

dapat diganti dengan alternatif lain seperti sel atau jaringan atau kultur *in vitro* maupun hewan invertebrata.

2. *Reduction*/ model alternatif agar dapat mengurangi jumlah hewan percobaan yang digunakan, metode statistik, program komputer, teknik biokimia.

Pada penelitian ini digunakan pengambilan sampel per kelompok dengan jumlah minimal yang diperbolehkan literatur statistik, yaitu 4 ekor per kelompok dan tambahan 10% untuk mengantisipasi hewan percobaan yang *drop out*, sehingga total sampel per kelompok adalah 8 ekor.

3. *Refinement* /meminimalisasi/ menghindari “penderitaan” dari rasa nyeri maupun distress.

Pada penelitian ini mencit sebelum digunakan sebagai hewan percobaan, semua mencit dipelihara terlebih dahulu selama kurang lebih satu minggu untuk penyesuaian lingkungan agar tidak stres dan merasa nyaman, mengontrol kesehatan dan berat badan serta menyeragamkan makanannya. Kandang tempat mencit dipelihara cukup luas dan dibersihkan dari kotoran serta dijaga kekeringannya setiap hari. Pada proses pengambilan darah, digunakan analgesik dan mencit dibalut dengan kain agar lebih tenang. Sebelum dibedah mencit dibius terlebih dahulu menggunakan *chloroform*, lalu dibedah untuk diambil organnya setelah itu mencit dikubur.¹⁷

Hasil dan Pembahasan

1. Karakteristik ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih

Pada Tabel 1. dapat dilihat bahwa menunjukkan bahwa kandungan utama pada ekstrak etanol TBJTP yang digunakan dalam penelitian ini adalah karbohidrat yaitu 50,23%. Karakteristik ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih (TBJTP) dapat dijelaskan pada tabel 3.1. berikut ini.

Tabel 1. Karakteristik ekstrak etanol TBJTP

Parameter	Ekstrak etanol
Kadar air (%)	
Kadar abu total (%)	8,0
Kadar karbohidrat (%)	15,53
Kadar protein (%)	50,23
	5,32

2. Karakteristik golongan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih

Pada Tabel 2. menunjukkan bahwa hasil penapisan fitokimia yang terdapat pada ekstrak etanol TBJTP adalah alkaloid, saponin dan triterpenoid. Karakteristik golongan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak jamur tiram putih dapat dijelaskan pada Tabel 3.2. berikut ini.

Tabel 2. Golongan senyawa kimia pada ekstrak etanol TBJTP

Kandungan kimia	Ekstrak etanol jamur tiram putih
Alkaloid	+
Flavonoid	-
Saponin	+
Tanin	-
Kuinon	-
Triterpenoid	+

Keterangan: + = terdeteksi
 - = tidak terdeteksi

3. Efek ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih pada uji bersihan karbon

Indeks fagositik sistem retikuloendotelium (RES) pada uji bersihan karbon ini dapat dijelaskan pada tabel 3.

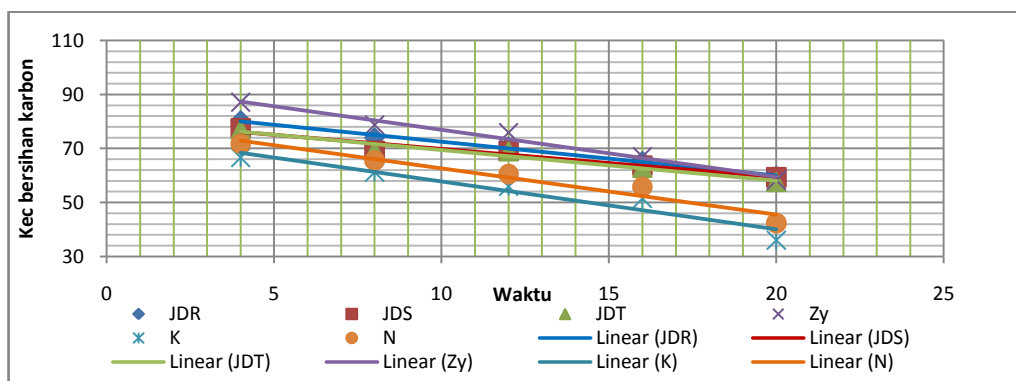
Pada Tabel 3 terlihat bahwa kecepatan eliminasi karbon yang ditunjukkan oleh koefisien regresi (k_r) dari kelompok dosis ekstrak etanol TBJTP dosis 100, 200, 400 mg/kg bb dan pembanding Zymosan dosis 10 mg/kg bb memiliki koefisien regresi (1,187; 1,504; 1,040 vs 1,040, $p < 0,05$) dan indeks fagositik (1,16; 1,47; 1,02 vs 1,00, $p < 0,05$) lebih besar bila dibandingkan dengan kontrol.

Efek ekstrak etanol TBJTP pada uji bersihan karbon dijelaskan pada grafik hubungan antara waktu dan kecepatan bersihan karbon 100-%T. Jika dilihat pada kecepatan eliminasi partikel karbon akibat pemberian ekstrak etanol TBJTP (Gambar 1), kemiringan garis yang paling tajam terjadi pada perlakuan kelompok Zy dan diikuti oleh JDR, JDS dan JDT.

Tabel 3. Indeks fagositik partikel karbon setelah pemberian ekstrak etanol TBJTP pada mencit

Kelompok uji	Dosis (mg/kg)	k_r (Koefisien regresi)	k (Indeks fagositik)
Kontrol	0	-1,018	1,00
Ekstrak etanol TBJTP	100	-1,187	1,16
	200	-1,504	1,47
	400	-1,040	1,02
Zymosan A	10	-1,616	1,58
Normal	0	-1,024	-

Keterangan: Indeks fagositik (k) = k Uji / k Kontrol



Gambar.1: Grafik kecepatan bersihan karbon pada mencit setelah pemberian ekstrak etanol TBJTP

Keterangan pada Gambar 3.1: Grafik kecepatan bersihan karbon pada mencit setelah pemberian ekstrak etanol TBJTP

Keterangan: Ekstrak etanol TBJTP 100mg/kg bb, $y = -1,187x + 84,06$
 Ekstrak etanol TBJTP 200mg/kg bb, $y = -1,504x + 79,70$
 Ekstrak etanol TBJTP 400mg/kg bb, $y = -1,040x + 79,40$
 Perbandingan Zymosan A 10 mg/kg, $y = -1,616x + 92,45$
 Kontrol (Negatif), $y = -1,018x + 63,15$
 Normal aquadest, $y = -1,024x + 66,55$

4. **Efek ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih (TBJTP) terhadap indeks organ mencit**
 pemberian ekstrak tidak mempengaruhi produksi sel-sel Kuffer maupun organ limfoid sekunder dalam reaksi fagositosis partikel asing.
 Efek ekstrak etanol TBJTP terhadap indeks organ dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel .4 Indeks organ mencit setelah pemberian ekstrak etanol TBJTP

Kelompok uji	Dosis (mg/kg)	Indeks organ (%)		
		Hati	Limpa	Kelenjar Timus
Kontrol	0	6,22±0,70	0,61±0,38	0,72±0,40
Ekstrak etanol TBJTP	100	6,02±0,38	0,60±0,31	0,72±0,47
	200	6,38±0,71	0,67±0,34	0,76±0,45
	400	5,88±0,63	0,71±0,43	0,88±0,63
Zymosan A	10	6,92±0,96	0,97±0,73	1,01±0,76
Normal	0	6,25±0,83	0,69±0,51	0,76±0,61

Pada Tabel 3.4 dapat dilihat bahwa indeks organ hati, limpa dan kelenjar timus pada semua kelompok ekstrak etanol TBJTP tidak bermakna dibandingkan terhadap kontrol. Hal ini terjadi karena mekanisme umpan balik tubuh terhadap penekanan sistem imun akibat metil prednisolon sehingga

5. Efek ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih (TBJTP) terhadap Jumlah Leukosit Total

Leukosit meliputi sel-sel yang terlibat dalam sistem imun *innate* seperti netrofil, basofil, eosinofil dan monosit dan sel-sel yang terlibat dalam sistem imun adaptif seperti limfosit B dan T.¹⁸ Efek ekstrak etanol TBJTP

terhadap jumlah leukosit total dapat dijelaskan pada Tabel 5.

Tabel 5 Jumlah leukosit total setelah pemberian ekstrak etanol TBJTP pada mencit

Kelompok uji	Dosis (mg/kg)	Jumlah Leukosit Total
		Sel μm^3
Kontrol	0	27,25±4,30
Ekstrak etanol TBJTP	100	41,75±10,04
	200	39,88±10,69
	400	44,50±15,37
Zymosan A	10	52,88±5,30
Normal	0	27,91±11,00

Tabel 6 Uji LSD jumlah leukosit total

Uji (dosis mg/kg bb) terhadap kelompok	LSD hitung φ
TBJTP (100) – kontrol	14,4928*
TBJTP (200) – kontrol	12,6261*
TBJTP (400) – kontrol	17,2428*
Zymosan A(10,00) - kontrol	25,6228*
Normal (0) - kontrol	0,65714

Keterangan: $\varphi = p(0,05)$

*= Bermakna

Pada Tabel 5. dapat dilihat bahwa ekstrak etanol TBJTP dapat meningkatkan jumlah leukosit total secara bermakna ($p=0,001$). Analisis dilanjutkan dengan metode LSD untuk melihat perbedaan masing-masing kelompok dibandingkan dengan kontrol. Selisih rata-rata tertinggi

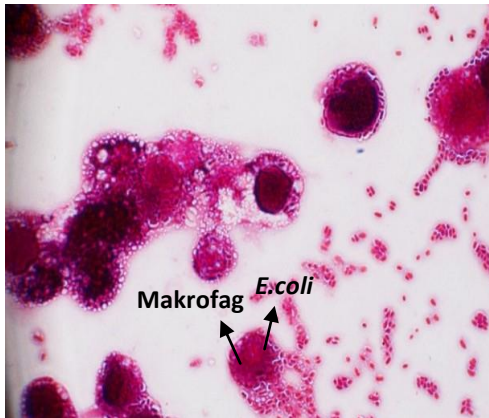
terlihat pada kelompok Zymosan dan bermakna ($p<0,05$) dibandingkan dengan kontrol. Kelompok ketiga dosis memiliki selisih rata-rata yang juga bermakna ($p<0,05$) dibandingkan dengan kontrol. Selisih rata-rata terendah terlihat pada kelompok normal dan tidak bermakna dibandingkan dengan kontrol .

6. Efek ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih (TBJTP) terhadap uji aktivitas fagositik makrofag eksudat peritoneal

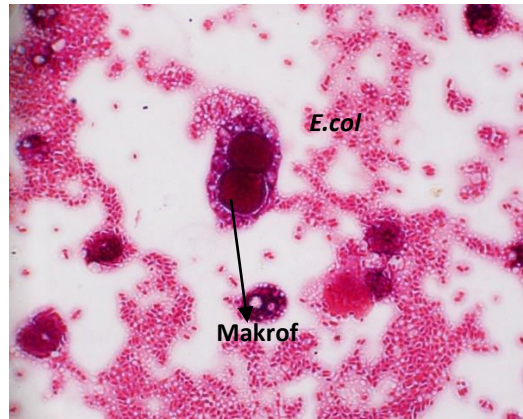
Efek ekstrak etanol (TBJTP) pada uji aktivitas fagositik makrofag eksudat peritoneal mencit dapat dilihat hasilnya pada uraian berikut.

Tabel 7. Rasio dan indeks fagositik setelah pemberian ekstrak etanol TBJTP pada mencit

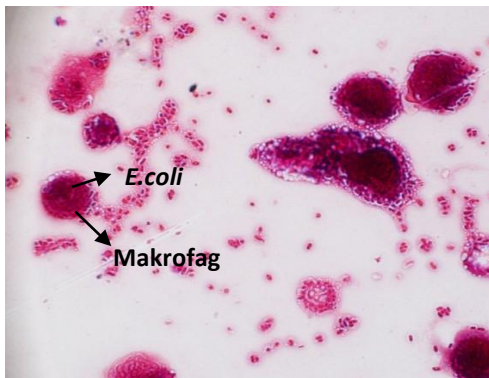
Kelompok uji	Dosis (mg/kg)	Aktivitas makrofag	
		Rasio fagositik (%)	Indeks fagositik
Kontrol	0	51,28±4,88	1,50±0,00
EEJT	100	95,68±3,88	3,48±0,98
	200	94,50±1,94	3,48±0,81
	400	91,85±11,67	4,06±0,72
Zymosan A	10	99,90±0,22	5,38±0,17
Normal	0	58,85±12,82	2,25±0,56



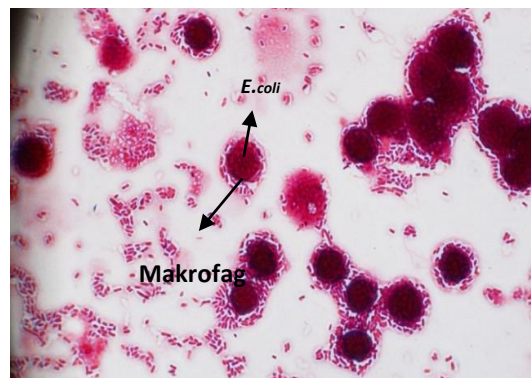
a



a



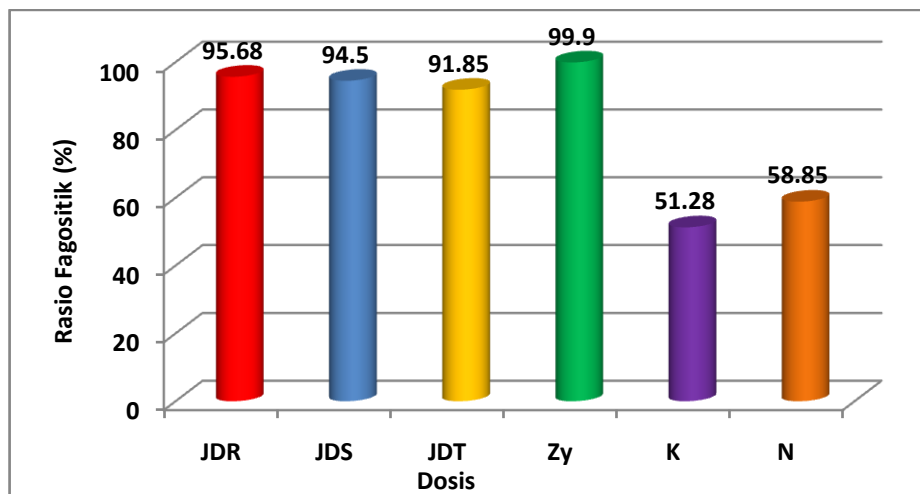
b



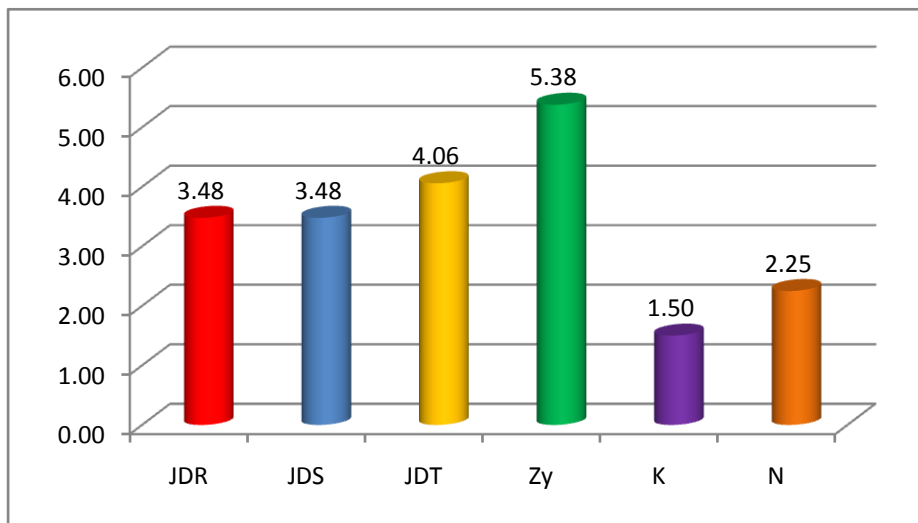
b

Gmb 2 (a) dan (b) makrofag eksudat peritoneal yang memfagositosis *E. coli* pada perlakuan ekstrak etanol TBJTP 100 mg/kg bb(1000x)
Ket: 1 = sel makrofag
2 = *E. coli* berwarna terang didalam makrofag

Gmb 3. (a) dan (b) makrofag eksudat peritoneal yang memfagositosis *E. coli* pada perlakuan ekstrak etanol TBJTP 200 mg/kg bb(1000x)
Ket: 1 = sel makrofag
2 = *E. coli* berwarna terang didalam makrofag



Gambar 4. Histogram rasio fagositik dalam mengeliminasi *E.coli* pada mencit setelah pemberian ekstrak etanol TBJTP



Gambar 5. Histogram indeks fagositik dalam kapasitas memakan *E.coli* pada mencit setelah pemberian ekstrak etanol TBJTP

Keterangan: J_{DR} = jamur tiram putih 100 mg/kg bb
 J_{DS} = jamur tiram putih 200 mg/kg bb
 J_{DT} = jamur tiram putih 400 mg/kg bb
 Zy = Zymosan A 10 mg/kg
 K = Kontrol Negatif
 N = Normal

Tabel 8 Uji LSD rasio fagositik makrofag

Uji (dosis mg/kg bb) terhadap kelompok	LSD hitung ^φ
TBJTP (100) – kontrol	44,4017*
TBJTP (200) – kontrol	43,2142*
TBJTP (400) – kontrol	40,5714*
Zymosan A(10,00) - kontrol	48,6142*
Normal (0) - kontrol	7,5714

Keterangan: φ = p(0,05)
 *= Bermakna

Tabel 9 Uji LSD indeks fagositik makrofag

Uji (dosis mg/kg bb) terhadap kelompok	LSD hitung ^φ
TBJTP (100) – kontrol	1,9812*
TBJTP (200) – kontrol	1,9850*
TBJTP (400) – kontrol	2,5600*
Zymosan A(10,00) - kontrol	3,8820*
Normal (0) - kontrol	0,7585

Keterangan: φ = p(0,05)
 *= Bermakna

Pada data Tabel 7. hasil percobaan menunjukkan peningkatan persen rasio fagositik dan indeks fagositik bakteri secara sangat bermakna ($p < 0,001$) pada kelompok Zymosan A dan ketiga dosis ekstrak etanol TBJTP. Pada Gambar 4 dan gambar 5. terlihat perbedaan aktivitas fagositik masing-masing kelompok perlakuan. Rasio fagositik tertinggi pada kelompok Zymosan A 99,9 dan indeks fagositik 5,38. Rasio fagositik terendah pada kelompok kontrol 51,28 dan indeks fagositik 1,50. Analisis dilanjutkan dengan metode LSD untuk melihat perbedaan masing-masing kelompok dibandingkan dengan kontrol.

Pada data Tabel 8. hasil uji LSD menunjukkan selisih rata-rata rasio fagositik tertinggi pada kelompok Zymosan dan ekstrak etanol TBJTP putih dosis 100, 200 dan 400 mg/kg bb bernilai bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan terhadap kontrol. Sedangkan selisih rata-rata indeks fagositik tertinggi pada kelompok Zymosan dan ekstrak etanol TBJTP putih dosis 400, 200 dan 100 mg/kg bb bernilai bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan terhadap kontrol (Tabel 9.)

Pembahasan

Ekstraksi 15 kg tubuh buah jamur tiram putih dengan metode perkolasi menghasilkan 585 g ekstrak kering. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak jamur

tiram putih mengandung protein, karbohidrat, alkaloid, saponin dan triterpenoid. Alkaloid dan triterpenoid merupakan senyawa berbobot molekul rendah serta polisakarida yang merupakan komponen penyusun karbohidrat yang menurut Wagner dapat berpotensi sebagai imunostimulan.¹⁹ Hasil telaah fitokimia ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih menunjukkan bahwa ekstrak mengandung senyawa yang berpotensi untuk menstimulasi sistem imun.

Uji efek imunostimulasi ekstrak etanol TBJTP pada mencit dilakukan dengan menekan sistem imunnya dengan metil prednisolon pada semua kelompok perlakuan kecuali kelompok mencit normal. Pemberian metil prednisolon bertujuan untuk melihat apakah ekstrak dapat memperbaiki sistem imun yang ditekan. Mengingat penggunaan metil prednisolon memberikan efek immunosupresi.

Penentuan aktivitas fagositik sistem retikuloendotelial (RES) antara lain dapat dilakukan melalui pengukuran kecepatan eliminasi partikel karbon dari aliran darah. Koloid karbon distabilkan oleh gelatin sehingga tidak menyebabkan thrombosis dalam paru-paru. Ketika koloid disuntikkan secara intravena, maka partikel karbon akan dieliminasi oleh sel-sel makrofag yang imobil dalam hati dan limpa. Fagositosis tertinggi dilakukan oleh sel Kupffer

hati yang mampu memfagositosis 90% dari keseluruhan partikel asing yang masuk, sedangkan sisanya akan difagositosis oleh sel makrofag limpa.²⁰

Koefisien regresi kurva 100-%T (T adalah transmittan) terhadap waktu merupakan parameter untuk mengevaluasi kecepatan eliminasi partikel karbon. Makin tinggi koefisien regresi dibandingkan terhadap kontrol, makin tinggi pula kecepatan eliminasinya. Dengan membandingkan koefisien regresi kelompok ekstrak etanol TBJTP dan pembanding terhadap kontrol, maka akan diperoleh suatu parameter yang disebut indeks fagositik (*k*). Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol TBJTP untuk ketiga dosis dapat memperbaiki sistem imun yang ditekan dengan metil pregnisolon.

Efek ekstrak etanol TBJTP pada uji bersihan karbon dapat dijelaskan pada grafik hubungan antara waktu dan kecepatan bersihan karbon 100-%T. Jika dilihat pada kecepatan eliminasi partikel karbon akibat pemberian ekstrak etanol TBJTP. Hal ini menunjukkan bahwa semua dosis ekstrak etanol TBJTP dapat mengeliminasi partikel karbon cukup cepat dalam setiap waktunya walaupun kecepatannya masih dibawah kelompok Zy.

Persen indeks hati, limpa dan kelenjar timus dapat digunakan sebagai salah satu parameter untuk menilai adanya respon imun. Peningkatan bobot organ dinyatakan dalam persen terhadap bobot badan (%)

indeks organ). Menurut pustaka, eliminasi partikel karbon 90% terjadi di hati oleh sel-sel Kuffer. Meningkatnya proliferasi pada sel-sel hati, limpa dan kelenjar timus serta bobot organ tersebut memberikan indikasi meningkatnya respon imun, sebaliknya menurunnya bobot organ tersebut berarti menurunnya respon imun.

Ekstrak etanol TBJTP dapat meningkatkan jumlah leukosit total secara bermakna. Peningkatan jumlah leukosit total dapat memberikan gambaran adanya efek ekstrak etanol TBJTP terhadap respon imun. Hal ini disebabkan karena pemberian metil prednisolon tidak mempengaruhi sintesis sumsum tulang untuk menghasilkan sel-sel leukosit maupun sel darah merah.

Selain uji dengan metode bersihan karbon, aktivitas fagositosis makrofag eksudat peritoneal mencit dievaluasi dengan melihat kemampuannya dalam memakan *E.coli* sebagai bakteri uji yaitu rasio dan indeks fagositik. Eksudat peritoneal terdiri atas 90% makrofag dan sisanya manosit serta sel-sel lainnya. Hasil percobaan menunjukkan peningkatan persen rasio fagositik dan indeks fagositik bakteri secara sangat bermakna pada kelompok Zymosan A dan ketiga dosis ekstrak etanol TBJTP. Hal ini disebabkan komponen bioaktif pada jamur tiram dapat meningkatkan aktivitas makrofag untuk memakan benda asing dalam hal ini *E.coli*, sehingga akan menyebabkan terjadinya proses fagositosis didalam

makrofag yang menyebabkan lisisnya sel bakteri. β -D-glucans dapat mengaktivasi peritoneal makrofag seperti enzim lisosom, aktivitas fagositik dan produksi H_2O_2 .²² Makrofag mengenali β -glucans melalui reseptor TLR-2 atau komplemen reseptor 3 (CR3, yang dinotasikan sebagai gabungan CD11b/CD18, (M,2 dan MAC1) yang merupakan salah satu bagian dari *Pattern recognition receptors* (PRR). Ikatan β -glucans dengan CR3 secara langsung akan menjadi pemicu untuk proses fagositosis.¹³

Simpulan

1. Ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih dapat meningkatkan peningkatan kecepatan dan indeks fagositik makrofag mencit terhadap partikel karbon sebagai benda asing.
2. Ekstrak etanol tubuh buah jamur tiram putih meningkatkan aktivitas fagositik makrofag mencit terhadap partikel *E.coli* sebagai mikroba uji dan jumlah leukosit total.

Daftar Pustaka

1. Ischak, Netty I. Aktivitas Imunosupresi Ekstrak Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe.) Melalui Uji Fagositosis Sel Netrofil Secara In Vitro. Bandung : Universitas Padjajaran. 2007.
2. Dijk, Van H. Phytomedicine and the immune system, 3rd ed., Eur.Sci Cooperative Phytoterapy, Amsterdam. 1994. p 5- 11.
3. Maria Immaculata Iwo. Imunomodulator. Makalah Workshop Imunomodulator. Bandung : Institut Teknologi Bandung. 2006.
4. Goodman Gilman, Alfred, Louis S. Goodman. The Pharmacological Basis of therapeutics. MacGraw-hill. New york. 2008; p 920.
5. Ooi VEC, Liu F. A review of pharmacological activities of mushroom polysaccharides. Int J Med Mushroom 1991: 195-206.
6. Zhao C, Sun H, Tong X, Qi Y. An antitumour lectin from the edible mushroom *Agrocybe aegerita*. Biochem J. 2003; 374(2):321-7.
7. Wasser, S P, Weis A. Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushroom: Current perspectives (Review). Int. J. Medicinal Mushroom, (1999b); 1: 31-62.
8. Chang, S.T., In: Arora, D.K., Mukerji, K.G., Marth, E.H. (Eds.), Hand Book of Applied Mycology.Marcel Dekker Inc., New York, 1991; p 221-240.
9. Lull, cristina. Harry J. Wichers, and Huub F. J. Savelkoul. Antiinflammatory and Immunomodulating Properties of Fungal Metabolites. Mediators of Inflammation. 2005; 2:63-80.
10. Resthetnikov, S.V., Wasser, S.P and Tan, K.K. Higher Basidiomycetes as a source of antitumour and immunostimulating polysaccharides (Review). International Journal of Medicinal Mushroom 2001(3); 361-394.
11. Kuniak,L and S. Karacsonyi, Polysaccharides of *Pleurotus ostreatus*: Isolation and structure of pleuran, an alkali-insoluble β -

- D-glucan. Journal Elsevier Science, Carbohydrate Polymers 1994; 24:107-111.
12. Wasser, S P, Weis A. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. Mini-review. Appl Microbiol Biotechnol 2002; 60: 258-274.
 13. Novak, M. β -glucan, history, and the present: immunomodulatory aspects and mechanism of action. Journal of immunotoxicology, 2008; 5:47-57.
 14. Bobek P, V Nasalova, S Cerna, S Galbavy, S. Stvrtina . Effects of Pleuran (β -glucan isolated from *Pleurotus ostreatus*) on Experimental Colitis in rats. Institute of Experimental Pharmacology, University of J.A. Komenský, Bratislava, Slovak Republic. *Physiol. Res.* 2001; 50: 575-581
 15. Morris H.J, J. Marcos, G. Llaurodo, R. Fontaine, V. Tamayo, N. Garcia, R.C Bermudez. 2003. Immunomodulating effects of hot water extract from *Pleurotus ostreatus* mycelium on cyclophosphamide treated mice. *Micologia Aplicada International*, 2003; 15(1):7-13.
 16. Iwalokun B.A, Usen, U.A, *et al.* Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus*. *African Journal of Biotechnology* 2007; 6(15):1732-1739.
 17. Anonim. Sosialisasi Etik Penggunaan Hewan Percobaan. Litbang Depatemen Kesehatan. 2009. (Diakses pada tanggal 26 Juli 2009). [http://www.litbang.depkes.go.id/download/materi020709/SOSIALISASI%20ETIK%20PENGUNAAN%20HP%20\(2009\).pdf](http://www.litbang.depkes.go.id/download/materi020709/SOSIALISASI%20ETIK%20PENGUNAAN%20HP%20(2009).pdf)
 18. Martini, frederic H, *Fundamentals of anatomy and physiology.* 7th ed. New York: Benjamin cummings. 2006. p 764-784.
 19. Wagner, H. Immunostimulan from Higher Plant, in *Biologically active Natural product*, k. Hostettmann, and P.J Lea(eds), oxford University Press, New York, 1987.p 127-141.
 20. Wagner, H. and K. Jurcic, *Method in Plant Biochemistry*, Vol. VI, University of Munich, Munich, 1991.p 201-202.