

PENGARUH EKSTRAK SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* [Burm f.] Ness) TERHADAP HITUNG EOSINOFIL MENCIT MODEL ALERGI INFLAMASI

Oleh :
ARISANTY NURSETIA R*)

ABSTRAK

Sambiloto mengandung flavonoid dan andrografolid yang mempunyai efek anti alergi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Pengaruh Ekstrak Sambiloto (*Andrographis paniculata* [Burm f.] Ness) terhadap hitung Eosinofil Serum Mencit Model Alergi Inflamasi. Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorik, dengan *post test only control group design*. Hewan uji berupa 15 ekor mencit jantan. Mencit dibagi menjadi tiga kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor. Kelompok I (kontrol) hanya diberi diet standar. Kelompok II diberi diet standar dan ekstrak sambiloto per oral dengan dosis 10mg/20 gram BB/hari. Kelompok III diberi diet standar dan antihistamin per-oral dengan dosis 0,4 mg/20 gram BB/hari. Sensitisasi mencit dengan ovalbumin (OVA). Hari ke-4 dan ke-20 dipapar OVA i.p. Dosis 0,15 cc/mencit. OVA inhalasi (50mg /50cc PBS) diberikan pada hari ke-27, 28, 29, 31, 32, 33, 35, dan 36. Serum dikoleksi setelah hari ke-37 secara intraorbital. Analisis data dengan uji Anova menggunakan program *SPSS for Windows Release 11.5*. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata eosinofil mencit kelompok I = 0,94 % kelompok II = 0,87 % dan kelompok III = 1,2 %. Dengan analisa statistik kelompok II dibandingkan kelompok I, kelompok III dibandingkan kelompok I dan kelompok II dibanding kelompok III menunjukkan perbedaan hitung eosinofil yang tidak bermakna ($p > 0,05$). Ekstrak sambiloto dengan dosis 10 mg /20gram BB/hari dapat menurunkan hitung eosinofil serum pada mencit model alergi inflamasi.

Keyword : *sambiloto, eosinofil, alergi.*

PENDAHULUAN

Indonesia mempunyai keanekaragaman hayati paling besar kedua didunia, hal ini ditunjukkan dengan banyaknya tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai obat tradisional (El-Fahmi, 2006). Saat ini, obat-obatan tradisional kembali "dilirik" masyarakat sebagai salah satu alternatif pengobatan (Praranza dan Adi Mardianto, 2003). Diyakini bahwa obat tradisional kurang memberikan efek samping jika dibandingkan obat farmasetik. Obat tradisional juga dapat mempengaruhi sistem imunitas tubuh (Hargono, 1996)

Sambiloto, yang nama ilmiahnya *Andrographis paniculata*, sudah umum digunakan dalam pengobatan tradisional di India, China, dan Asia Tenggara, termasuk Indonesia (Nuryati, 2004). Khasiat sambiloto sebagai salah satu bahan obat tradisional sudah dikenal luas sejak zaman dahulu (Praranza dan Adi Mardianto, 2003). Berdasarkan hasil penelitian kimiawi, diketahui bahwa sambiloto mengandung saponin, flavonoida, dan tanin (Winarto, 2004). Flavonoid telah diketahui sebagai senyawa anti tumor, anti histamin/ anti alergi, anti iskemia, anti peradangan (Safitri, 2004).

Fraksi etanol sambiloto 7,386 µg/ml, 14,778 µg/ml, 29,556 µg/ml, dan 73,89 µg/ml menunjukkan efek anti histaminergik terhadap ileum marmot yang diinduksi dengan histamin

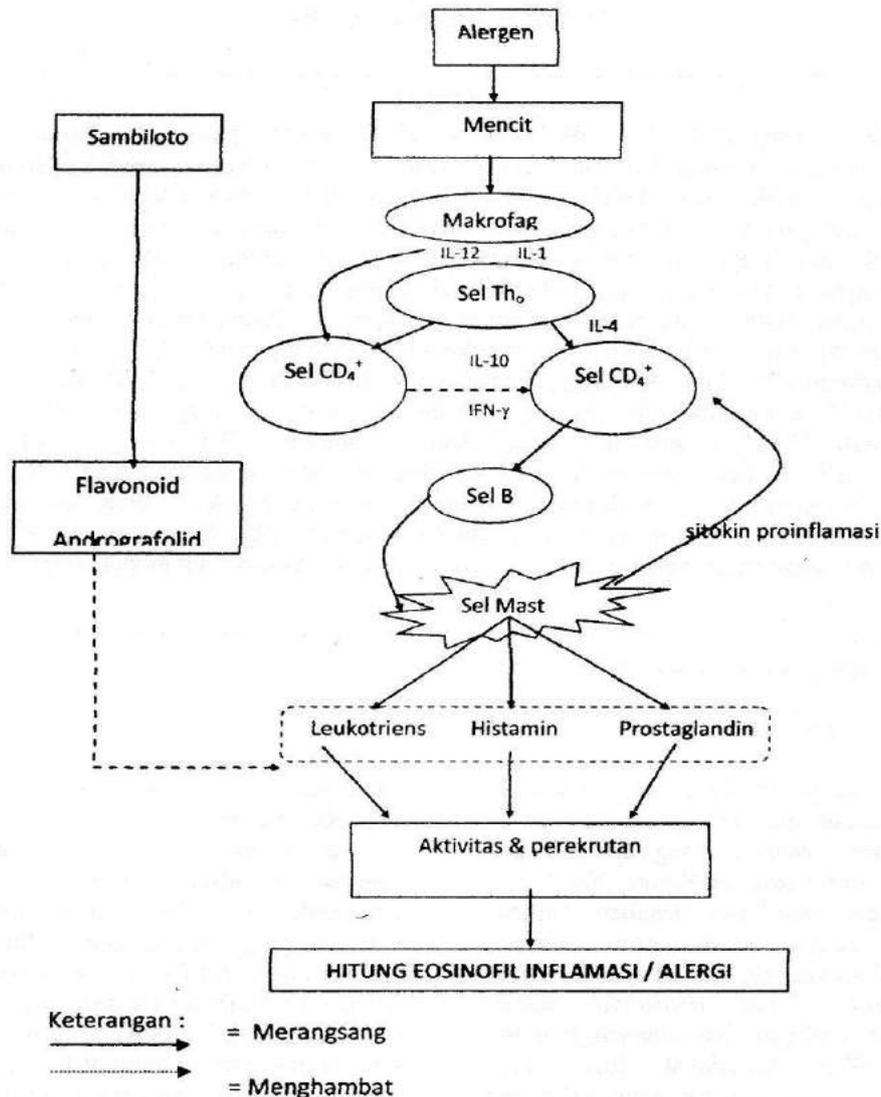
dihidroksiklorida secara *invitro* (Winarto, 2003; Malhotra and Singh, 2005).

Reaksi alergi terhadap inhalasi antigen (alergen) merupakan penyebab utama serangan asma (Jalal, 2005). Reaksi tersebut timbul apabila individu yang memproduksi Imunoglobulin-E (IgE) yang spesifik terhadap suatu alergen, terpapar kembali oleh alergen yang sama (Janeway *et al.*, 2005). IgE spesifik akan berikatan dengan sel yang mempunyai reseptor IgE seperti sel mast. Bila alergen berikatan dengan sel mast, maka sel mast akan berdegranulasi dan mengeluarkan mediator yang berperan pada reaksi inflamasi (Rahmawati dkk., 2003). Degranulasi sel mast akan mengeluarkan mediator vasoaktif (histamin, *Platelet Activating Factor*, prostaglandin, leukotrien), mediator pro inflamasi (netrofil dan sel-sel mononuklear), memproduksi sitokin, dan faktor kemotaksis peradangan terutama *Eosinophil Chemotactic Factor of Anaphylaxys* (ECF-A) (Jalal, 2005). Interaksi mediator dengan sel lain akan meningkatkan permeabilitas vaskuler, bronkokonstriksi dan hipersekresi mukus (Rahmawati dkk, 2003)

Diketahui bahwa flavonoid yang terkandung dalam herba sambiloto mengandung senyawa anti alergi dan dapat menekan proses inflamasi, sehingga diharapkan penggunaan herba sambiloto dapat menurunkan inflamasi pada alergi.

*) Staf Pengajar Jurusan Kesehatan, Politeknik Negeri Jember

Kerangka Berpikir



METODOLOGI

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental laboratorik, dengan *post test only control group design*. Subjek penelitian berupa 15 ekor mencit jantan, dengan berat badan ± 17-20 gram, dan berumur 4-6 minggu. Untuk pengambilan sample, digunakan *random sampling*.

Pada penelitian 'Uji Efek Antialergi dari Ekstrak Sambiloto', diketahui bahwa pemberian 0,2 ml/10 gram BB ekstrak sambiloto per oral pada mencit dapat mengurangi diameter bentolan yang timbul akibat reaksi alergi. Ekstrak sambiloto tersebut dibuat dengan menimbang 1 gram ekstrak sambiloto kemudian dilarutkan dalam 20 ml aquades (Agata, 1997). Berarti, setiap 0,2 ml mengandung 10 mg ekstrak sambiloto. Sehingga

dosis ekstrak sambiloto yang digunakan adalah 10mg/20 gram BB/hari. 2 gram ekstrak sambiloto dilarutkan dalam 10 cc aquades. Dosis yang diberikan pada 1 mencit adalah 0,05 cc. Untuk membuat model mencit alergi dilakukan suntikan intra peritoneal (i.p) pada hari ke-4 dan 20. Pada hari ke 4 diberikan dengan dosis 2,5 mg OVA dilarutkan pada 7,75 cc AL (OH)₃ untuk 50 mencit. Pada hari ke-20 diberikan dengan dosis 2,5 mg OVA dilarutkan dalam 10 cc PbS untuk 50 mencit. Dosis untuk 1 mencit adalah 0,15 cc. Pemaparan OVA inhalasi (500µg / 50 cc PbS) diberikan pada hari ke-27, 28, 29, 31, 32, 33, 35, dan 36. Antihistamin yang digunakan adalah fexofenadin. Dosis antihistamin generasi III yang digunakan pada manusia dewasa adalah 120

mg/hari (Winotopradjoko, 2004). Sehingga dosis yang digunakan pada mencit adalah $120 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,4 \text{ mg}/20\text{gr}$ BB/hari (pembulatan). 1 Kapsul fexofenadin dilarutkan dalam 50 cc aquades. Dosis fexofenadin yang diberikan pada 1 mencit adalah 0,085cc.

Jalannya Penelitian pertama kandang mencit dipersiapkan dengan alas sekam, kemudian hewan uji diadaptasikan dengan kondisi laboratorium tempat penelitian dilakukan selama kurang lebih 1 minggu dan diberi makan pakan mencit standar serta diberi minum air setiap hari, Tikus ditimbang berat badannya, kemudian dikelompokkan secara random, Hewan uji dibagi menjadi tiga kelompok, masing-masing kelompok 5 ekor. Kelompok I tanpa diberi perlakuan (sebagai kontrol), kelompok II diberi perlakuan ekstrak sambiloto per-oral dengan dosis 10 mg/ 20 gram BB/ hari, kelompok III sebagai kontrol positif dengan pemberian antihistamin per-oral dengan dosis 0,4 mg/20 gram BB/hari. Untuk membuat model alergi semua mencit dari kelompok I, II, dan III disuntik dengan OVA, dengan cara : (1) Pemaparan OVA I dilakukan pada hari ke-4 secara i.p (2) Pemaparan OVA II dilakukan pada hari ke-20 secara i.p. (3) Pemaparan OVA III dilakukan pada hari ke-27, 28 dan 29 secara inhalasi. (4) Pemaparan OVA IV dilakukan pada hari ke 31, 32, 33, 34 dan 35 secara inhalasi. (5) Pemaparan OVA V dilakukan pada hari ke-36 secara inhalasi. Pemaparan OVA aerosol selama 20 menit. Aerosol berupa *nebulizer* cairan OVA dalam *saline* menggunakan Pari LC Star *nebulizer* yang digerakkan kompresor udara dengan *flow rate* 6 L/min. (6) Mencit dikorbkan

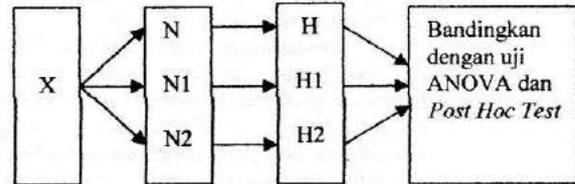
HASIL DAN PEMBAHASAN

Rata-rata hitung eosinofil kelompok I (kontrol) adalah 0,94 %, sedangkan rata-rata hitung eosinofil kelompok II adalah 0,87 %. Berarti terjadi penurunan rata-rata hitung eosinofil pada kelompok II, apabila dibandingkan kelompok I. Hal ini kemungkinan disebabkan karena ekstrak sambiloto dapat menghambat degranulasi mastosit dan mempunyai efek anti alergi (Aldi, 2005). Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak sambiloto dapat menghambat pembentukan prostaklandin dan leukotrien, sehingga aktivitas eosinofil juga terhambat (Krisanti, 2003).

Rata-rata hitung eosinofil pada kelompok III adalah 1,198 %. Rata-rata hitung eosinofil kelompok III lebih tinggi dari pada kelompok I. Hal ini disebabkan karena mencit kelompok II sedang mengalami alergi yang menyebabkan jumlah eosinofilnya diatas normal. Normalnya eosinofil adalah 1-3% dari jumlah leukosit di darah tepi, yaitu sekitar $350 \text{ sel}/\text{mm}^3$. Eosinofilia atau

setelah 24 jam setelah akhir pemaparan OVA. Darah mencit diambil dari vena orbitalis, kemudian dilakukan hitung eosinofil. Hitung eosinofil dengan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE) diperoleh gambaran eosinofil diameter $9 \mu\text{m}$, mengandung granula berwarna pink cerah, memenuhi sitoplasma, dan inti terdiri dari 2 - 3 lobus dihubungkan oleh benang-benang kromatin. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji Anova dan dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* menggunakan program *SPSS for Windows Release 11.5*

Rancangan penelitian



Keterangan :

- X : Jumlah mencit yang digunakan
- N : Kelompok kontrol (diet standar)
- N1 : Kelompok perlakuan I (diet standar + ovalbumin +ekstrak sambiloto per oral).
- N2 : Kelompok perlakuan II (diet standart + ovalbumin + antihistamin per-oral)
- H : Hitung eosinofil kelompok kontrol
- H1 : Hitung eosinofil kelompok perlakuan 1
- H2 : Hitung eosinofil kelompok perlakuan 2

peningkatan jumlah eosinofil dapat dikategorikan menjadi 3, yaitu : ringan ($351-1500 \text{ sel}/\text{mm}^3$), sedang ($1500-5000 \text{ sel}/\text{mm}^3$) dan berat (lebih dari $5000/\text{mm}^3$) (Jalal, 2005). Eosinofilia pada darah tepi biasanya terjadi pada reaksi alergi (Lombo, 1995). Pemberian antihistamin dapat menurunkan hitung eosinofil karena antihistamin adalah kelompok obat yang mencegah kerja histamin dalam tubuh (Anonim, 2003b). Antihistamin generasi III yang digunakan adalah fexofenadine. Fexofinadine mempunyai efek dapat menghambat kemotaksis eosinofil dan pelepasan ECP dari eosinofil (Rengganis, 2004a), sehingga pemberian antihistamin dapat menurunkan hitung eosinofil.

Hitung eosinofil pada kelompok mencit II dan III dibandingkan dengan kelompok I untuk mengetahui besarnya kemampuan ekstrak sambiloto dan antihistamin dalam menurunkan hitung eosinofil. Sensitisasi dengan OVA bertujuan agar terjadi reaksi alergi. Hal ini

dikarenakan OVA merupakan protein alergenik, yang banyak ditemukan di putih telur, dapat menimbulkan reaksi alergi (MML, 2006). Hitung eosinofil akan meningkat pada keadaan alergi (Bellanti, 1993).

Dalam penelitian ini kelompok I (kontrol) dianggap sebagai kelompok normal yang tidak alergi. Ovalbumin dapat menyebabkan alergi sudah dibuktikan dengan penelitian sebelumnya, sehingga sensitisasi mencit dengan OVA dapat menyebabkan alergi kemudian diikuti peningkatan eosinofil. Oleh karena itu besarnya penurunan eosinofil pada kelompok yang diberi ekstrak sambiloto dan antihistamin diharapkan mendekati kelompok kontrol yang dianggap sebagai kelompok normal dan tidak alergi.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rata-rata hitung eosinofil mencit dari ketiga kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan. Uji statistik ANOVA dilakukan untuk mengetahui apakah ada pengaruh perlakuan terhadap hitung eosinofil. Hasil analisis variansi satu jalan terhadap rata-rata hitung eosinofil mencit pada kelompok II dan III tidak berbeda bermakna secara statistik dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Rata-rata hitung eosinofil kelompok II lebih rendah dibanding kelompok III. Dapat disimpulkan bahwa dalam penelitian ini ekstrak sambiloto mempengaruhi hitung eosinofil serum pada mencit

model alergi inflamasi dan lebih poten dalam menurunkan hitung eosinofil jika dibandingkan dengan antihistamin, karena hitung eosinofil ekstrak sambiloto sama dengan kontrol meskipun secara statistik tidak signifikan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan hitung eosinofil pada pemberian ekstrak sambiloto dengan dosis 10 mg/ 20 gram BB/hari pada mencit model alergi inflamasi sama dengan kontrol yang secara statistik tidak signifikan. Hal ini berarti bahwa efek antihistamin yang ada pada ekstrak sambiloto terbukti dapat menurunkan hitung eosinofil yang merupakan penanda alergi inflamasi bila dibandingkan dengan antihistamin generasi III (fexofenadine).

Saran

Sebaiknya dilakukan penghitungan eosinofil di jaringan (bronkhus) agar lebih menggambarkan keadaan eosinofil yang berada pada saluran pernafasan mencit model alergi inflamasi. Dan sebaiknya juga dilakukan pemeriksaan sitokin (IL-5).

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K. dan Litchman, A. H., 2003. *Cellular and Molecular Immunology*. Elsevier Science, USA, pp : 264, 443-448.
- Adiyusuf, 2002. Penyakit Alergi dan Sistem Kekebalan Tubuh Manusia. <http://www.cybermed.cbn.net.id/detil.asp?kategori=Health&newsno=1133>
- Agata, E., 1997. Uji Efek Antialergi dari Ekstrak Sambiloto pada Mencit. Skripsi. Fakultas Farmasi UNIKA Widya Mandala. Surabaya.
- Almada, A., 2000. *Natural COX-2 Inhibitors The Future of Pain Relief*. http://www.newhope.com/nutritionscience/NSN_backs?Augs_00/cox2.cfm
- Amroyan *et al.*, 1999. *Inhibitory Effect of Andrographolide from Andrographis Paniculata on PAF-Induced Platelet Agregation*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=retrieve&db=pubmed&dopt=abstract&list-uids=10228608>
- Anonim, 2005b. *Flavonoids, Asthma, Histamine, Gastroesophageal Reflux and Gastric Acid Secretion*. <http://www.asthmaworld.org/flavonoid.htm>
- Anonim, 2006. *Sambiloto*. <http://www.roemahherba.net>
- Armstrong, F.B., 1995. *Buku Ajar Biokimia*. Penerjemah : RF. Maulany. Edisi Ketiga. Penerbit EGC. Jakarta, pp : 494 – 496, 553.
- Babish *et al.*, 2002. *Compositions Exhibiting Synergistic Inhibition of the Expression and/ or Activity of Cyclooxygenase-2*. <http://appft1.uspto.gov/netaoi/nphparser?sect1=PTO2§2=HITOFF&p=1&u=%2fntahtml%2fPTO%2Fsearchbool.html>
- Baratawidjaja, K. G., 2004. *Imunologi Dasar*. Edisi Ke-6. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Bellanti, J.A., 1993. *Imunologi III*. Penerjemah : A. Samik Wahab. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Bosquet *et al.*, 1991. Indirect evidence of bronchial inflammation assessed by titration of inflammatory mediators in

- BAL fluid of patients with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*
- Dorland, W. A., 2002. Kamus Kedokteran Dorland. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Guyton, A.C. & Hall, J.E., 1997. "Resistensi Tubuh Terhadap Infeksi: I. Leukosit, Granulosit, Sistem Makrofag-Monosit, dan Inflamasi". *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Editor Bahasa Indonesia: Irawati Setiawan. Edisi 9. Penerbit EGC. Jakarta, hal : 552
- Harborne, J. B., 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB, Bandung, hal: 69 – 71.
- ISO, 2004. *Vol 39*. PT AKA. Jakarta, hal: 122.
- Jalal, E. A., 1998. Mast Cell Konsep Baru Tentang Ciri Morfologi dan Fungsinya. *Jurnal Kedokteran Yarsi. Vol. 6. No. 3*. Jakarta, hal: 28 – 41.
- Knekt *et al.*, 2003. *Flavonoid intake and risk of chronic disease*.
<http://www.ajcn.org/cgi/content/full/76/3/560>
- Kuby, J., 1997. *Immunology*. Edisi III. W. H. Freeman ana Company, New York.
- Madhav *et al.*, 1998. *Antiallergic Activity of Andrographolide*.
<http://medind.nic.in/imvw/imvw7387.html>
- Markham, K. R., 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerbit ITB, Bandung, hal: 1 – 15.
- Mueller, J., 2005. *Bioflavonoids: Natural Relief for Allergy and Asthma*.
http://www.blackmores.com.au/news/news_detail.asp?cat=108&cart+494
- Prapanza, I. & Marianto, A. P., 2003. *Khasiat dan Manfaat Sambiloto Raja Pahit Penakluk Penyakit*. Agro Media Pustaka, Jakarta, hal: V, 3-9.
- Prasetya, W., dkk., 2004. Hubungan antara Kadar IgE Total Serum dengan Hipereaktiviti Bronkus pada Penderita Asma Alergi Stabil di RS Persahabatan, Jakarta. *Jur. Respir. Indo. Vol. 24. No. 3*. Jakarta, hal: 118-124.
- Rahmawati, I., dkk., 2003. Patogenesis dan Patofisiologi Asma. *Cermin Dunia Kedokteran. No. 141*. Jakarta, hal: 5 – 10.
- Ronald, 2003. *Immunophenotyping of Bronchoalveolar Lavage*.
<http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?tool=pmcentrez&artid=104508>
- Sahelian, R., 2005. *Apigenin*.
<http://www.physicianformulas.com/>
- Suhardjono, D., 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, hal: 207.
- Suharmiati, 2001. Isolasi dan Identifikasi Andrografolid dari Herba *Andrographis paniculata* Ness. *Media Litbang kesehatan. Vol. XI. No. 2*. Jakarta, hal: 33.
- Suyono, A.H. 2000. *Kenali dan Cegah Alergi Sejak Dini*.
<http://www.indonesia.com/intisari/2000/oktober/alergi-10.htm>
- Winarto, W. P., 2003. *Sambiloto: Budidaya dan Pemanfaatan untuk Obat*. Penebar Swadaya. Jakarta, hal: 1 – 8.
- Widmann, F. K., 1995. *Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Edisi IX. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, hal: 23-28.