

# PENGARUH PEMBERIAN SERBUK *EFFERVESCENT* SUSU KAMBING ETAWA (*Capra hircus*) TERHADAP AKTIVITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG MENCIT JANTAN GALUR DDY

Ana Widhi Hastuti, Sapto Yuliani

Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta

## Abstrak

Susu kambing etawa (*Capra hircus*) dapat dimanfaatkan sebagai imunomodulator alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah pemberian serbuk effervescent susu kambing etawa berpengaruh terhadap makrofag mencit jantan galur DDY dalam meningkatkan aktivitas fagositinya. Sebanyak 60 ekor mencit jantan galur DDY, berat badan 26-35 gram dan umur 1,5-2 bulan. Mencit dibagi dalam 6 kelompok masing-masing 10 ekor. Kelompok I sebagai kontrol negatif diberi aquabidest secara peroral, kelompok II sebagai kontrol placebo, kelompok III kontrol positif diberi Imulan<sup>®</sup> secara peroral, sedangkan kelompok IV, V, dan VI masing-masing diberi serbuk effervescent susu kambing Etawa, dengan dosis 100 mg/KgBB/hari, 200 mg/KgBB/hari dan 400 mg/KgBB/hari secara peroral selama 14 hari dan 21 hari. Pada hari ke-14 dan ke-21 dilakukan isolasi makrofag peritoneum pada semua kelompok hewan coba, kemudian makrofag tersebut dikultur selama 24 jam. Makrofag hasil kultur dilakukan uji fagositosis makrofag dengan metode tak langsung (tak spesifik) dengan menambahkan partikel latex pada kultur makrofag. Data hasil uji aktivitas fagositosis makrofag pada hari ke-14 dan hari ke-21 dianalisis dengan menggunakan uji ANAVA dan uji LSD dengan taraf kepercayaan 95%. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian serbuk **effervescent** susu kambing etawa dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Hasil penelitian menunjukkan bahwa serbuk effervescent susu kambing Etawa dosis 200 mg/KgBB selama 21 hari memiliki aktivitas fagositosis makrofag yang paling tinggi sehingga dapat dijadikan sebagai alternatif imunostimulator.

**Kata kunci :** *effervescent*, susu kambing Etawa, fagositosis makrofag, imunostimulator.

## PENDAHULUAN

Sistem kekebalan tubuh adalah semua mekanisme yang digunakan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya, yang ditimbulkan oleh berbagai bahan di lingkungan (Castro *et al*, 2008). Sistem imun terbagi menjadi sistem imun spesifik dan imun non spesifik.

Susu kambing Etawa (*Capra hircus*) berpotensi sebagai *imunostimulator*. Susu ini mengandung senyawa  $\beta$ -casein yang diindikasikan mampu merangsang proliferasi limfosit (Lamothe *et al*, 2007). Susu kambing Etawa yang memiliki zat aktif  $\beta$ -casein (Lamothe *et al*, 2007), *fluorin* (Moeljanto *et al*, 2002.), *lysozime*, laktoferrin, dan vitamin A (Djaja, 2009), vitamin C (Pereira *et al*, 2008), dan vitamin E (Pizzoferrato *et al*, 2007) yang dapat berperan sebagai *imunostimulator*. Pada penelitian sebelumnya, telah diketahui bahwa serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh melalui proses proliferasi limfosit. Hasil penelitian tersebut, diketahui bahwa serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis 400 mg/KgBB dapat meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit jantan galur *DDY* (Ismi *et al*, 2009).

Aktivitas *imunostimulator* ini juga dapat dikaji dengan melihat aktivitas fagositosis makrofag. Makrofag sebagai efektor pada sistem imun, berperan memusnahkan kuman atau patogen yang akan merusak tubuh (Harijanto, 2000). Makrofag adalah setiap sel mononuklear yang besar dan bersifat fagositik serta merupakan turunan monosit yang diproduksi dalam sumsum tulang (Baratawidjaja, 2006). Selama proses fagositosis berjalan makrofag yang teraktivasi menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) seperti NO dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Afifudin, 2009). ROS (Reactive Oxygen Spesies) adalah senyawa dengan berat molekul rendah diantaranya adalah ROI seperti superoksida, hidrogen peroksida, OH, dan RNI seperti NO dan ONOO memiliki aktivitas mikrobisidal. Namun, produksi ROS yang berlebihan dapat terlibat dalam proses patologis, seperti

perkembangan penyakit jantung, gangguan neurodegenerative, dan kanker. RNI (Reactive Nitrogen Intermediate) dan ROI (Reactive Oxygen Intermediate) berpotensi menghasilkan agen sitotoksik yang mungkin memiliki efek patologis (Alvarez E *et al*, 2002). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian serbuk *effervescent* susu kambing Etawa terhadap aktivitas fagositosis makrofag pada peritonium mencit galur *DDY*.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dari hasil penelitian sebelumnya (Ismi *et al*, 2009), media RPMI 1640 (Sigma), Giemsa, *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10%, *Phosphat Bufferent Saline* (PBS).

### Alat

Peralatan yang dibutuhkan dalam penelitian, meliputi spuit injeksi oral, neraca elektrik (Shimadzu, tipe LS-6DT), *laminar air flow* (Labquib), seperangkat alat bedah, inkubator CO<sub>2</sub> 5% 37°C, pipet Pasteur, hemositometer (Nebeur), plate 24 *well*, mikro pipet, mikroskop

### Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan putih galur *DDY* yang diperoleh dari Laboratorium LPPT Unit IV UGM dengan berat badan awal 26 sampai 35 gram dan berumur 1,5 sampai 2 bulan dalam kondisi sehat.

### Prosedur Penelitian

#### Uji *Imunostimulator* Serbuk *Effervescent* Susu Kambing Etawa

Uji *imunostimulator* serbuk *effervescent* susu kambing Etawa diawali dengan pembuatan larutan uji. Larutan uji dibuat dengan melarutkan serbuk *effervescent* susu kambing Etawa ke

dalam aquabidest, untuk masing-masing dosis yaitu 100 mg/KgBB, 200 mg/KgBB, dan 400 mg/KgBB)

### Pengelompokan Hewan Uji

Sebanyak 60 ekor mencit dibagi menjadi enam kelompok masing-masing kelompok 10 ekor mencit. Keenam kelompok diadaptasikan dengan kandang selama 2 hari sebelum diberi perlakuan. Semua kelompok mendapat perlakuan umum berupa pemberian pakan dan minum *ad libitum*. Kelompok I diberi serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis 100 mg/KgBB, kelompok II diberi serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis 200 mg/KgBB dan kelompok III diberi serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis 400 mg/KgBB, kelompok IV diberi *effervescent* tanpa susu kambing Etawa sebagai placebo, kelompok V sebagai kontrol normal yang hanya diberi pakan dan minum, sedangkan kelompok VI diberi Imulan<sup>®</sup> sebagai kontrol positif, pemberian placebo sebagai kontrol bahan pembawa. Hewan uji diberi perlakuan selama 2 minggu (14 hari) untuk setiap lima ekor mencit pada masing-masing kelompok dan selama 3 minggu (21 hari) untuk lima ekor mencit lainnya pada masing-masing kelompok. Selanjutnya pada hari ke-14 dan hari ke-21, 5 ekor mencit pada tiap kelompok dikorbankan untuk dianalisis sekresi ROI oleh makrofag dari masing-masing hewan uji.

### Isolasi dan kultur makrofag

Pada minggu terakhir perlakuan, dilakukan nekropsis terhadap hewan uji. Mencit diletakkan dalam posisi telentang, kulit bagian perut dibuka dan dibersihkan selubung peritoneumnya dengan alkohol 70 %, kemudian disuntikkan 10 ml medium RPMI dingin ke dalam rongga peritoneum, ditunggu selama 3 menit sambil digoyang-goyang secara perlahan. Cairan peritoneum dikeluarkan dengan cara menekan rongga peritoneum dengan 2 jari. Cairan diaspirasi dengan spuit injeksi, dipilih pada bagian yang tidak berlemak dan jauh dari

usus. Aspirat disentrifuse pada 1200 rpm, 4°C selama 10 menit. Supernatan dibuang, pelet diresuspensikan dengan RPMI yang mengandung FCS 10%. Jumlah sel dihitung dengan hemositometer dan ditentukan viabilitasnya dengan larutan *trypan blue*, kemudian ditambahkan dengan medium komplit sehingga didapatkan suspensi sel dengan kepadatan  $2,5 \times 10^6$  /ml. Suspensi sel ditumbuhkan dalam mikrokultur 24 sumuran yang telah diberi *coverslips* bulat. Setiap sumuran diisi 200 mikroliter ( $5 \times 10^5$  sel). Sel diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5 %, 37° C selama 30 menit, kemudian ditambahkan medium komplit sebanyak 1 ml tiap sumuran dan diinkubasi 2 jam. Sel dicuci 2x dengan RPMI 1 ml tiap sumuran dan diinkubasi dalam medium komplit dilanjutkan sampai 24 jam (Ratnaningsih, 2001; Akrom, 2004).

### Uji Fagositosis Makrofag

Uji fagositosis dilakukan *in vitro* menggunakan *latex bead* diameter 3 mikroliter (Supargiyono, 1994). Partikel latex diresuspensikan dalam FBS sehingga didapatkan konsentrasi  $2,5 \times 10^7$  / ml. Makrofag yang telah dikultur sehari sebelumnya dicuci 2 x dengan medium RPMI, kemudian ditambahkan suspensi latex 200 mikroL/sumuran, diinkubasikan dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5 %, 37 °C selama 60 menit. Sel kemudian dicuci dengan PBS 3 x, dikeringkan pada suhu kamar dan difiksasi dengan metanol absolut selama 30 detik. Setelah kering dipulas dengan Giemsa 20 %. Persentase sel makrofag yang memfagositosis partikel latex dan banyaknya partikel latex yang difagositosis dihitung dari sekitar 100 sel yang diperiksa dengan mikroskop cahaya perbesaran 40 X.

### Analisis Data

Analisis data statistik aktivitas fagositosis makrofag dengan uji analisa varian dan dilanjutkan dengan uji LSD.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Penelitian

Hasil perhitungan aktifitas fagositosis makrofag pada hari ke -14

Aktifitas fagositosis makrofag dilihat dari persentase makrofag yang makan latek. Makrofag yang makan latek dapat diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 40 X dengan pengecatan Giemsa. Partikel lateks yang terpajan dengan fagosit akan ditangkap dan ditelan dengan bantuan reseptor pada membran sel. Semakin banyak partikel lateks yang dimakan oleh makrofag maka semakin tinggi kemampuan fagositosis makrofag tersebut. Data yang diperoleh adalah persentase makrofag yang makan latek dari masing-masing kelompok yang diberi perlakuan selama 2 minggu (14 hari) dan selama 3 minggu (21 hari).

Pada Tabel I terlihat bahwa makrofag peritoneum mencit dari semua kelompok hewan mampu memfagositosis makrofag. Kelompok dosis 400 mg/KgBB memfagositosis makrofag paling tinggi dibanding dengan kelompok perlakuan yang lain, dan kelompok yang paling rendah dalam memfagositosis makrofag adalah kelompok kontrol negatif yang hanya diberi aquabidest. Semua kelompok dosis 100

mg/KgBB, 200 mg/KgBB, dan 400 mg/KgBB pada hari ke-14 memiliki rerata persentase makrofag yang makan latek lebih tinggi dari kelompok Imulan<sup>®</sup> dan lebih tinggi dari kelompok kontrol negatif dan placebo.

Analisis statistik dilakukan pada hasil pengamatan fagositosis makrofag untuk membandingkan antara hasil pengamatan aktivitas fagositosis makrofag pada kelompok yang diberi perlakuan dosis serbuk *effervescent* susu kambing Etawa (*Capra hircus*), placebo, kelompok kontrol negatif, dan yang diberi perlakuan Imulan<sup>®</sup> sebagai kontrol positif.

Berdasarkan uji LSD pada tabel II maka dapat dianalisis bahwa kelompok kontrol negatif yang diberi aquabidest dibandingkan dengan kelompok placebo menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan, Hal ini dapat disimpulkan bahwa dengan pemberian placebo mempunyai efek sebanding dengan Aquabidest. Jika kelompok aquabidest dibandingkan dengan kelompok III (Imulan<sup>®</sup>), kelompok IV (dosis 100 mg/KgBB), kelompok V (dosis 200 mg/KgBB), kelompok VI (dosis 400 mg/KgBB) memiliki persentase yang lebih tinggi dari aquabidest. Berdasarkan hasil analisis tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis 100 mg/KgBB, 200 mg/KgBB dan 400 mg/KgBB memiliki efek meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag

**Tabel I. Hasil perhitungan jumlah persentase dan rerata persentase makrofag yang makan latek untuk kelompok dengan lama perlakuan 14 hari.**

Sampel	Dosis 100mg/ KgBB (%)	Dosis 200mg/ KgBB (%)	Dosis 400mg/KgBB (%)	Placebo (%)	Kontrol negatif (%)	Kontrol Positif (%)
1	45	53	58	27	28	31
2	47	-	<b>65</b>	23	24	40
3	43	44	-	20	30	47
4	30	65	67	26	8	27
5	41	67	49	16	14	32
$\bar{x}$	41,20	57,25	59,75	22,40	20,80	35,40
SD	6,65	10,78	8,14	4,51	9,44	8,02

## Prosiding Seminar Nasional "Home Care"

**Tabel II. Hasil uji LSD dari persentase makrofag yang memakan latek pada mencit jantan galur *DDY* pada hari ke-14 antar pasangan kelompok perlakuan.**

Kelompok	(Mean±SD)	Kel I Kontrol Negatif	Kel II Placebo	Kel III Imulan®	Kel IV 100 mg/ KgBB	Kel V 200 mg/ KgBB	Kel VI 400 mg/ Kg BB
Kel I Kontrol Negatif	20.80±9,44						
Kel II Placebo	22,40±4,51	TS (II=I)					
Kel III Imulan®	35,40±8,02	S (III>I)	S (III>II)				
Kel IV 100 mg/KgBB	41,20±6,65	S (IV>I)	S (IV>II)	TS (IV=III)			
Kel V 200 mg/KgBB	57,25±10,78	S (V>I)	S (V>II)	S (V>III)	S (V>IV)		
Kel VI 400 mg/KgBB	59,75±8,14	S (VI>I)	S (VI>II)	S (VI>III)	S (VI>I)	TS (VI=V)	

Keterangan :

S : Berbeda signifikan

TS : Tidak ada perbedaan yang signifikan

yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol sehat (aquabidest).

Kelompok I (aquabidest) jika dibandingkan dengan kelompok III (Imulan®) menunjukkan perbedaan yang signifikan sehingga dapat disimpulkan bahwa Imulan® memiliki kemampuan meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Untuk mengetahui pengaruh placebo dalam sediaan *effervescent* susu kambing Etawa terhadap peningkatan aktivitas fagositosis makrofag dan membuktikan bahwa susu kambing Etawa (*Capra hircus*) dapat berefek sebagai *imunostimulator*, maka dilakukan perbandingan antara kelompok II dengan kelompok dosis IV, V, dan VI. Hasil statistik menunjukkan bahwa kelompok IV, V, dan VI memiliki rerata persentase yang lebih tinggi secara signifikan dengan kelompok II. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis

100 mg/KgBB, 200 mg/KgBB, dan 400 mg/KgBB memiliki efek peningkatan aktivitas fagositosis makrofag yang lebih tinggi daripada placebo. Berdasarkan analisis statistik tersebut maka dapat disimpulkan bahwa placebo sebagai bahan pembawa susu kambing Etawa tidak mempengaruhi peningkatan aktivitas fagositosis makrofag pada pemberian serbuk *effervescent* susu kambing Etawa. Hal ini membuktikan bahwa zat aktif susu kambing etawa mampu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag.

Pada kelompok III (kontrol positif) dibandingkan dengan kelompok IV (dosis 100 mg/KgBB) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan, kelompok V (dosis 200 mg/KgBB), dan kelompok VI (dosis 400 mg/KgBB). Pada kelompok IV (dosis 100 mg/KgBB) jika dilihat dari rerata persentasenya memiliki nilai yang lebih tinggi secara tidak signifikan dengan kontrol positif (Imulan®).

Kelompok V (dosis 200 mg/KgBB) dan kelompok VI (400 mg/KgBB) memiliki rerata persentase yang lebih tinggi dari kontrol positif. Berdasarkan uraian tersebut maka dapat disimpulkan bahwa dosis 100 mg/KgBB memiliki aktivitas peningkatan aktivitas fagositosis makrofag yang sama dengan Imulan<sup>®</sup> dan kelompok 200 mg/KgBB, 400 mg/KgBB memiliki aktivitas peningkatan aktivitas fagositosis makrofag yang lebih tinggi dibanding dengan Imulan<sup>®</sup>.

Pada kelompok IV jika dibandingkan dengan kelompok V dan VI, ternyata memiliki rerata persentase makrofag yang lebih rendah secara signifikan. Berarti secara statistik, serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis 100 mg/KgBB memiliki efek meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag yang lebih rendah jika dibandingkan dosis 200 mg/KgBB dan 400 mg/KgBB. Berdasarkan analisis statistik sebelumnya, pada pemberian dosis 100 mg/KgBB meskipun kemampuannya dalam meningkatkan aktivitas fagositosis lebih tinggi daripada placebo tetapi aktivitasnya sama dengan Imulan<sup>®</sup>. Berarti kandungan susu kambing dalam serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis 100 mg/KgBB mampu meningkatkan aktivitas fagositosis yang sama dengan Imulan<sup>®</sup>.

Jika melihat hasil analisis statistik yang dilakukan sebelumnya, bahwa dengan pemberian dosis 200 mg/KgBB dan dosis 400 mg/KgBB selama 14 hari ternyata memiliki kemampuan meningkatkan aktivitas fagositosis lebih tinggi daripada aquabidest, placebo dan Imulan<sup>®</sup>. Jika kelompok V (dosis 200 mg/KgBB) dibandingkan kelompok VI (dosis 400 mg/KgBB) ternyata mempunyai rerata persentase yang lebih rendah dan hasil statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan. Hal ini dapat disimpulkan bahwa dosis 200 mg/KgBB memiliki kemampuan meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag yang sama dengan dosis 400 mg/KgBB.

Hasil perhitungan aktivitas fagositosis makrofag pada hari ke -21

Pada perlakuan 21 hari diperoleh nilai persentase yang terkecil ditunjukkan pada kelompok I yaitu kontrol negatif yang hanya diberi aquabidest steril. Sedangkan pada kelompok kontrol positif yang diberi Imulan<sup>®</sup> dan kelompok perlakuan serbuk *effervescent* susu kambing Etawa, mempunyai harga persentase fagositosis makrofag yang lebih besar. Pada dosis 200 mg/KgBB/hari mempunyai nilai persentase makrofag yang makan latek yang paling tinggi dibanding dengan kelompok perlakuan yang lain.

**Tabel III. Hasil perhitungan jumlah persentase dan rerata persentase makrofag yang makan latek untuk kelompok dengan lama perlakuan 3 minggu.**

Sampel	Dosis 100mg/KgBB (%)	Dosis 200mg/KgBB (%)	Dosis 400mg/KgBB (%)	Placebo (%)	Kontrol negatif (%)	Kontrol Positif (%)
1	54	61	50	28	34	44
2	57	51	48	26	15	49
3	43	54	63	30	23	34
4	60	67	58	17	22	42
5	-	72	-	-	27	54
$\bar{x}$	53,50	61,00	54,75	25,25	24,20	44,60
SD	7,42	8,75	6,99	5,74	6,98	7,54

## Prosiding Seminar Nasional "Home Care"

**Tabel IV. Hasil uji LSD dari persentase makrofag yang makan latek pada mencit jantan galur D<sub>DDY</sub> pada hari ke-21 antar pasangan kelompok perlakuan**

Kelompok	(Mean±SD)	Kel I Kontrol Negatif	Kel II Placebo	Kel III Imulan®	Kel IV 100 mg/ KgBB	Kel V 200 mg/ KgBB	Kel VI 400 mg/ Kg BB
Kel I Kontrol Negatif	24,20±6,98						
Kel II Placebo	25,25±5,74	TS (II=I)					
Kel III Imulan®	44,60±7,54	S (III>I)	S (III>II)				
Kel IV 100 mg/KgBB	53,50±7,42	S (IV>I)	S (IV>II)	TS (IV=III)			
Kel V 200 mg/KgBB	61,00±8,75	S (V>I)	S (V>II)	S (V>III)	S (V>IV)		
Kel VI 400 mg/KgBB	54,75±6,99	S (VI>I)	S (VI>II)	S (VI>III)	S (VI>I)	TS (VI=V)	

Keterangan :

S : Berbeda signifikan

TS : Tidak ada perbedaan yang signifikan

Kelompok yang paling rendah adalah kelompok aquabidest. Kelompok dosis 100 mg/KgBB/hari dan 400 mg/KgBB/hari pada hari ke-21 memiliki persentase makrofag lebih tinggi dari kelompok Imulan®, aquabidest, dan placebo.

Efek stimulasi serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dengan lama perlakuan 21 hari dibuktikan dengan adanya aktivitas fagositosis makrofag dilihat dari persentase makrofag yang makan latek. Kelompok yang memiliki rerata dan persentase yang paling tinggi, terdapat pada kelompok V dengan dosis 200 mg/KgBB. Selanjutnya diikuti oleh kelompok VI yang diberi serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis 400 mg/KgBB/hari. Kelompok dosis yang paling rendah memfagositosis makrofag adalah kelompok IV dengan dosis 100 mg/KgBB. Dengan demikian efek peningkatan aktivitas fagositosis makrofag selama 21 hari dari urutan kemampuan fagositosis dari yang terkecil

sampai yang terbesar adalah : aquabidest, placebo, Imulan®, serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis 100 mg/KgBB/hari, 400 mg/KgBB/hari dan dosis 200 mg/KgBB/hari.

Berdasarkan uji LSD pada tabel V maka dapat dianalisis bahwa kelompok kontrol negatif yang diberi aquabidest dibandingkan dengan kelompok placebo menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan. Hal ini dapat disimpulkan bahwa dengan pemberian placebo mempunyai efek sebanding dengan Aquabidest. Jika kelompok aquabidest dibandingkan dengan kelompok III (Imulan®), kelompok IV (dosis 100 mg/KgBB), kelompok V (dosis 200 mg/KgBB) dan kelompok VI (dosis 400 mg/KgBB) memiliki persentase yang lebih tinggi dari aquabidest. Berdasarkan hasil analisis tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa Imulan® serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis 100 mg/KgBB, 200 mg/KgBB dan 400 mg/KgBB

memiliki efek meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol sehat (aquabidest).

Pada kelompok II ( placebo ) menunjukkan persentase dengan perbedaan yang signifikan lebih rendah dari Imulan<sup>®</sup>. Hal ini menunjukkan bahwa placebo memiliki efek meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag yang lebih rendah dari Imulan<sup>®</sup>. Selanjutnya pada kelompok I (aquabidest) jika dibandingkan dengan kelompok III ( Imulan<sup>®</sup> ) menunjukkan perbedaan yang signifikan sehingga dapat disimpulkan bahwa Imulan<sup>®</sup> memiliki kemampuan meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Kelompok placebo dengan kontrol negatif (aquabidest) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Berarti pemberian placebo pada hewan uji yang sehat tidak mempengaruhi peningkatan aktivitas fagositosis makrofag. Untuk mengetahui pengaruh placebo dalam sediaan *effervescent* susu kambing Etawa terhadap peningkatan aktivitas fagositosis makrofag dan membuktikan bahwa susu kambing Etawa (*Capra hircus*) dapat berefek sebagai *imunostimulator*, maka dilakukan perbandingan antara kelompok II dengan kelompok dosis IV, V, dan VI. Hasil statistik menunjukkan bahwa kelompok IV, V, dan VI memiliki rerata persentase yang lebih tinggi secara signifikan dengan kelompok II. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis 100 mg/KgBB, 200 mg/KgBB, dan 400 mg/KgBB memiliki efek peningkatan aktivitas fagositosis makrofag yang lebih tinggi daripada placebo. Berdasarkan, analisis statistik tersebut maka dapat disimpulkan bahwa placebo sebagai bahan pembawa susu kambing Etawa tidak mempengaruhi peningkatan aktivitas fagositosis makrofag pada pemberian serbuk *effervescent* susu kambing Etawa. Hal ini membuktikan bahwa zat aktif susu kambing etawa mampu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag.

Pada kelompok III (kontrol positif) dibandingkan dengan kelompok IV (dosis 100 mg/KgBB) dan kelompok VI (dosis 400 mg/KgBB) menunjukkan bahwa tidak ada

perbedaan yang signifikan, kelompok V (dosis 200 mg/KgBB) diperoleh hasil statistik yang menunjukkan perbedaan yang signifikan. Pada kelompok IV (dosis 100 mg/KgBB) dan kelompok VI (dosis 400 mg/KgBB) jika dilihat dari rerata persentasenya memiliki nilai kadar yang lebih tinggi secara tidak signifikan dengan kontrol positif (Imulan<sup>®</sup>). Kelompok V (dosis 200 mg/KgBB) memiliki rerata persentase yang lebih tinggi dari kontrol positif. Berdasarkan uraian tersebut maka dapat disimpulkan bahwa dosis 100 mg/KgBB dan dosis 400 mg/KgBB memiliki aktivitas peningkatan aktivitas fagositosis makrofag yang sama dengan Imulan<sup>®</sup> tetapi mempunyai nilai persentase yang lebih tinggi dari Imulan<sup>®</sup> dan kelompok 200 mg/KgBB memiliki aktivitas peningkatan aktivitas fagositosis makrofag yang lebih tinggi secara signifikan dibanding dengan Imulan<sup>®</sup>.

Pada kelompok IV jika dibandingkan dengan kelompok V dan VI, ternyata memiliki rerata persentase makrofag yang lebih rendah namun tidak signifikan. Dengan demikian serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis 100 mg/KgBB memiliki efek meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag yang lebih rendah dan tidak berbeda secara signifikan jika dibandingkan dosis 200 mg/KgBB dan 400 mg/KgBB. Berdasarkan analisis statistik sebelumnya, pada pemberian dosis 100 mg/KgBB meskipun kemampuannya dalam meningkatkan aktivitas fagositosis lebih tinggi daripada placebo tetapi aktivitasnya sama dengan Imulan<sup>®</sup> dan dosis 400 mg/KgBB. Berarti kandungan susu kambing dalam serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis 100 mg/KgBB mampu meningkatkan aktivitas fagositosis yang sama dengan Imulan<sup>®</sup>.

Jika melihat hasil analisis statistik pada yang dilakukan sebelumnya, bahwa dengan pemberian dosis 200 mg/KgBB selama 21 hari ternyata memiliki kemampuan meningkatkan aktivitas fagositosis lebih tinggi daripada aquabidest, placebo dan Imulan<sup>®</sup> dan dosis 400 mg/KgBB mempunyai aktivitas yang sama dengan Imulan<sup>®</sup> tetapi mempunyai nilai persentase yang lebih tinggi dibanding Imulan<sup>®</sup>.

Jika kelompok V (dosis 200 mg/KgBB) dibandingkan kelompok VI (dosis 400 mg/KgBB) ternyata mempunyai rerata persentase yang lebih tinggi dan hasil statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan. Hal ini dapat disimpulkan bahwa dosis 200 mg/KgBB memiliki kemampuan meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag yang sama dengan dosis 400 mg/KgBB.

Pada pemberian serbuk *effervescent* susu kambing Etawa dosis 200 mg/KgBB menunjukkan rerata yang lebih tinggi kemungkinan disebabkan karena mekanisme imunostimulator dari Imulan<sup>®</sup> melalui jalur aktivitas yang sama dengan susu kambing Etawa (*Capra hircus*) Hal ini dapat disebabkan karena aktivitas imunostimulator dari Imulan<sup>®</sup> melalui mekanisme yang sama dengan zat aktif  $\beta$ -casein, fluorin ataupun vitamin A yang terkandung dalam susu kambing Etawa (*Capra hircus*) dalam meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Imulan<sup>®</sup> memiliki salah satu komposisi yaitu ekstrak *Curcuma domestica* Rhizoma yang mengandung zat aktif kurkumin. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, pada *Curcuma xanthorrhiza* Roxb yang juga mengandung zat aktif kurkumin, terbukti dapat merangsang sistem kekebalan nonspesifik melalui peningkatan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneal ayam petelur, yang diduga disebabkan oleh kurkumin, polisakarida dan minyak atsirinya. Senyawa-senyawa tersebut bekerja merangsang sel-sel makrofag melakukan respon fagositosis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga dapat memperbaiki sistem imun (imunostimulator) pada ayam petelur. Kurkuminoid (kurkumin) dan polisakarida dalam temulawak dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag dan menghasilkan NO dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Fagositosis makrofag merupakan tahap pertama dalam respon terhadap serangan mikroorganisme dan mengaktifkan peningkatan respon kekebalan bawaan. Selama proses fagositosis berjalan makrofag yang teraktivasi menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) seperti NO dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Afifudin, 2009).

Susu kambing Etawa (*Capra hircus*) mengandung senyawa yang bertanggung jawab terhadap kekebalan tubuh yaitu fluorin. Kandungan *fluorin* dalam susu kambing 10 sampai 100 kali lebih banyak daripada susu sapi, yang bermanfaat sebagai antiseptik alami sekaligus antialergi dan dapat membantu menekan pembiakan bakteri di dalam tubuh, dan dapat bersifat sebagai imunostimulator (Moeljanto *et al*, 2002.). Pemberian imunogen sebagai imunostimulansia dari kandungan vitamin A masuknya kedalam tubuh akan segera mengaktifasi fagosit, termasuk makrofag untuk melakukan fagositosis mengeliminasi imunogen. Semakin banyak makrofag yang memfagositosis makrofag maka makin efektif dalam memberikan tanggapan terhadap antigen yang masuk.

Selama proses fagositosis berjalan makrofag yang teraktivasi menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) seperti NO dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Afifudin, 2009). Dalam jumlah yang berlebih ROS yang dihasilkan oleh makrofag dapat bersifat sebagai oksidan yang reaktif. Oksidan yang terlibat dalam berbagai proses patologis sebagian besar justru berasal dari proses-proses biologis alami dan melibatkan apa yang disebut sebagai senyawa oksigen reaktif. Senyawa oksigen reaktif yang berperan sebagai oksidan seperti OH, OOH, O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Walaupun oksigen sangat penting untuk metabolisme normal makhluk hidup, oksigen juga dapat meningkatkan jumlah radikal bebas. Kecenderungan untuk mendapatkan elektron dari substansi lain membuat radikal bebas sangat reaktif sehingga dapat merusak komponen sel dan dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Stress oksidatif yaitu ketidakseimbangan antara jumlah oksidan dan antioksidan. Beberapa contoh penyakit akibat terjadi stress oksidatif yaitu hipertensi, atherogenesis, dan gagal ginjal. Ketidakseimbangan oksidan dan antioksidan ini dapat diatasi dengan memberikan antioksidan (Ardini, 2005). ROS adalah senyawa dengan berat molekul rendah diantaranya adalah ROI seperti superoksida, hidrogen peroksida, OH,

dan RNI seperti NO dan ONOO memiliki aktivitas microbicidal. Namun, produksi ROS yang berlebihan dapat terlibat dalam proses patologis, seperti perkembangan penyakit jantung, gangguan neurodegenerative, dan kanker. RNI (Reactive Nitrogen Intermediate) dan ROI (Reactive Oxygen Intermediate) berpotensi menghasilkan agen sitotoksik yang mungkin memiliki efek patologis. Obat yang menghambat pembentukan ROS (Reactive Oxygen Spesies) mungkin memiliki efek bermanfaat dalam pengobatan penyakit akibat kelebihan produksi EGCG (Epigallocatechin-3-gallate) selain dapat meningkatkan, juga dapat menghambat produksi ROI dan RNI oleh makrofag peritoneal tikus tergantung dari dosis yang diberikan. Dari hasil penelitian ini menunjukkan hasil bahwa dengan peningkatan dosis EGCG yang diberikan, dapat menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas fagositosis makrofag melalui sekresi produksi ROI (Alvarez E *et al*, 2002). Pada pemberian serbuk *effervescent* dapat peningkatan aktivitas fagositosis oleh makrofag sehingga dapat sebagai imunostimulator.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemberian serbuk *effervescent* susu kambing etawa (*Capra hircus*) dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag.
2. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian serbuk *effervescent* susu kambing etawa dosis 200 mg/KgBB selama 21 hari menunjukkan rerata fagositosis makrofag yang paling tinggi namun tidak berbeda signifikan dengan dosis 100 mg/KgBB dan 400 mg/KgBB.

## DAFTAR PUSTAKA

Afifudin, Ahmad Nur., 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) Pada

Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Makrofag Peritoneal Ayam Petelur (*Gallus Sp.*). *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.

Alvarez E, Leiro J, Orallo F., 2002, Effect of (-)-Epigallocatechin-3-Gallate on respiratory burst of rat macrophages, Fakulted de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, Spain.

Ardini, SH., 2005, Efek Pemberian Kombinasi Vitamin E dan Vitamin C Terhadap Kadar Nitrit Oxide (NO) Pada Preeklampsia, *Tesis*, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro : Semarang.

Baratawidjaja, K.G., 2006, *Imunologi Dasar*, Edisi 7, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

Dale M; Foreman, JC and Fan, TD.(ed) 1994. Textbook of Immunopharmacology. Oxford : Blackwell scientific publications.

Djaja, Zen, dr. 2009. Susu Kambing : Manfaat, Khasiat, Kandungan dan Kelebihan Susu Kambing. Sumber Pustaka : <http://masmintos.blogspot.com/2009/07/susu-kambingmanfaat-khasiat-kandungan.html> diakses tanggal 14 Februari 2009.

Harijanto, P.N. (ed), 2000, *Malaria epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Penanganannya*, ECG, Jakarta.

Ismi N.F, Normakiyah, Fitria M. 2009. Serbuk *Effervescent* Susu Kambing Etawa (*Capra hircus*) Sebagai Alternatif Imunostimulator. *Program Kreativitas Mahasiswa Bidang Penelitian* : Yogyakarta

Lamothe S, Robitaille G, St-Gelais D, Britten M. 2007. Short communication: extraction of beta-casein from goat milk. *J Dairy Sci* 90 (12) : 5380-5382.

Moeljanto, Rini Damayanti. 2002. *Khasiat dan Manfaat Susu Kambing Susu Terbaik dari*

## Prosiding Seminar Nasional "Home Care"

- Hewan Ruminansia*. AgroMedia Pustaka : Jakarta.
- Pereira RN, Martins, Vicente AA. 2008. Goat milk free acid characterization during conventional and ohmic heating pasteurization. *J Dairy Sci* 91 (8) : 2925-2962.
- Pizzoferrato L, Manzi P, Marconi S, Fedele V, Claps S, Rubino R. 2007. Degree of antioxidant protection : a parameter to trace the origin and quality of goat's milk and cheese. *J Dairy Sci* 90 (10) : 4569-4643.
- Ratnaningsih, T., 2001; Akrom., 2004. Efek Ekstrak Polifenol Teh Hijau Terhadap Respon Imun Seluler Mencit Selama Infeksi *Salmonella Typhimurium*. Yogyakarta : Pasca Sarjana UGM.
- Wijayanti, M.W., 2000, *Sekresi Reactive Oxygen Intermediates oleh Makrofag Peritoneum Mencit yang Diimunisasi Selama Infeksi Plasmodium Berghei*, BIK, 32, 77-82 : Yogyakarta.

