

JURNAL SAINSTEK (SAINS DAN TEKNOLOGI)

Efek *Low Level Laser Therapy* (LLLT) Terhadap Makrofag Penghasil *Fibroblast Growth Factor 1* (FGF-1) pada Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat II Mencit Jantan yang diberikan *Silver Sulfadiazine* Topikal
(*Nindya Shinta, I Ketut Sudiana, Troef Soemarno*)

Pengembangan Sistem Keamanan Kendaraan Bermotor Secara Elektronik Dengan Menggunakan Mikrokontroler *AT90S313* (*Misto, Deden Lutansa, Rusgiyanto*)

Penggunaan Serbuk Gergajian Kayu dan Penambahan Pupuk N,P,K Terhadap Produksi Jamur Tiram Coklat (*Pleurotus cystidiosus*) (*Imam Mudakir*)

Peranan Likopen terhadap Nuclear Factor- κ Beta (NF-B) Sel Endotel yang Diinduksi Leptin (*Heni Fatmawati*)

Gangguan Kognitif Ringan pada Perokok dan Non Perokok
(*Bayu Aji, Alif Mardijana*)

Ekspresi TNF- α Makrofag di Rongga Mulut Tikus Wistar yang diberi Konsumsi Ekstrak Cair Daun Mimba (*Azadirachta Indica*)
(*Nuzulul Hikmah, I Dewa Ayu Ratna Dewanti*)

Penggunaan *Ionic Liquid* Berbasis Kation Imidazolium dalam Reaksi Hidrolisis Enzimatis pada Xilan (*Ika Oktavianawati*)

Kajian Struktur Senyawa Turunan Asam Naftil Propionat sebagai Kandidat Obat Antiradang bukan Steroid (*Indah Purnama Sary*)

An Ethno-botanical Study: Uses of Several Wild Plants or Weeds as Vegetables at Andongrejo Village, Tempurejo District, Jember Regency (*Umiyah*)

Faktor yang Mempengaruhi Kejadian Kurang Energi Protein (KEP) pada Anak Balita Non Gakin di daerah Perkotaan di Wilayah Kerja Puskesmas Sobo Kecamatan Banyuwangi Kabupaten Banyuwangi
(*Farida Wahyu N, Anik Kusumawati, Sulistiyani*)



LEMBAGA PENELITIAN
UNIVERSITAS JEMBER

Jurnal Sainstek	Volume 9 No. 1	Halaman 1 - 84	Juni 2010	ISSN 1412-8136
-----------------	----------------	-------------------	-----------	-------------------

Jurnal Sainstek (Sains dan Teknologi)

ISSN : 1412-8136

Penasehat

Rektor Universitas Jember

Penanggung Jawab

Ketua Lembaga Penelitian Universitas Jember

Ketua Penyunting

Dr. Ir. Cahyoadi Bowo

Penyunting Ahli

Prof. Drs. Agus Subekti, M.Sc, Ph.D

Prof. Dr. Ir. Wiwik Sri Wahyuni, M.S

Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc, Ph.D

Drg. Achmad Gunadi, M.S, Ph.D

Dr. Ir. Cahyoadi Bowo

Dr. Ir. Tri Chandra Setiawati, M.Si

Dr. Kahar Muzakar, M.Si

Drg. Mei Syafridi, MD.Sc, Ph.D

Penyunting Pelaksana

Dra. Hari Sulistyowati, M.Sc

Drs. Didik Sugeng Pambudi, M.S

Subhan Arif Budiman, S.P, M.P

Pelaksana Tata Usaha

Sugiarto

Martinus Haryanto

Melia Tri Ratnani

Ayunda Kumala Nusantarawati

Alamat Penyunting dan Tata Usaha

Lembaga Penelitian Universitas Jember

Kampus Bumi Tegalboto Jl. Kalimantan 37 Jember 68121

Telp./Fax. (0331) 337818, 339385

e-mail: jst@lemlit.unej.ac.id

Penerbit

Lembaga Penelitian Universitas Jember

Jurnal Sainstek (Sains dan Teknologi) merupakan sarana publikasi hasil penelitian dalam bidang IPTEK, khususnya ilmu-ilmu eksakta yang dilakukan oleh para peneliti baik di lingkungan Universitas Jember maupun di luar lingkungan Universitas Jember. Jurnal Sainstek terbit sekali setahun dengan kemungkinan penambahan penerbitan (edisi khusus).

JURNAL SAINSTEK (SAINS DAN TEKNOLOGI)

Daftar Isi

Efek <i>Low Level Laser Therapy</i> (LLLT) Terhadap Makrofag Penghasil <i>Fibroblast Growth Factor 1</i> (FGF-1) pada Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat II Mencit Jantan yang diberikan <i>Silver Sulfadiazine</i> Topikal (Nindya Shinta, I Ketut Suidiana, Troef Soemarno)	1 - 10
Pengembangan Sistem Keamanan Kendaraan Bermotor Secara Elektronik Dengan Menggunakan Mikrokontroler <i>AT90S313</i> (Misto, Deden Lutansa, Rusgiyanto)	11 - 20
Penggunaan Serbuk Gergajian Kayu dan Penambahan Pupuk N,P,K Terhadap Produksi Jamur Tiram Coklat (<i>Pleurotus cystidiosus</i>) (Imam Mudakir)	21 - 27
Peranan Likopen terhadap Nuclear Factor-κ Beta (<i>NF-κB</i>) Sel Endotel yang Diinduksi Leptin (Heni Fatmawati)	28 - 35
Gangguan Kognitif Ringan pada Perokok dan Non Perokok (Bayu Aji, Alif Mardijana)	36 - 44
Ekspresi TNF-α Makrofag di Rongga Mulut Tikus Wistar yang diberi Konsumsi Ekstrak Cair Daun Mimba (<i>Azadirachta Indica</i>) (Nuzulul Hikmah, I Dewa Ayu Ratna Dewanti)	45 - 49
Penggunaan <i>Ionic Liquid</i> Berbasis Kation Imidazolium dalam Reaksi Hidrolisis Enzimatis pada Xilan (Ika Oktavianawati)	50 - 58
Kajian Struktur Senyawa Turunan Asam Naftil Propionat sebagai Kandidat Obat Antiradang bukan Steroid (Indah Purnama Sary)	59 - 67
An Ethno-botanical Study: Uses of Several Wild Plants or Weeds as Vegetables at Andongrejo Village, Tempurejo District, Jember Regency (Umiyah)	68 - 71
Faktor yang Mempengaruhi Kejadian Kurang Energi Protein (KEP) pada Anak Balita Non Gakin di daerah Perkotaan di Wilayah Kerja Puskesmas Sobo Kecamatan Banyuwangi Kabupaten Banyuwangi (Farida Wahyu N, Anik Kusumawati, Sulistiyani)	72 - 84

EKSPRESI TNF- α MAKROFAG DI RONGGA MULUT TIKUS WISTAR YANG DIBERI KONSUMSI EKSTRAK CAIR DAUN MIMBA (*Azadirachta Indica*)

Nuzulul Hikmah¹, dan I Dewa Ayu Ratna Dewanti¹

Abstract: Multidimensional crisis in Indonesia caused to effects the medicine price may not be reached by the citizen, cause citizen choose the traditional medicine. Neem are one of the trees traditional medicine known by society and has function as immunomodulatory. In the other side TNF- α macrophage were caused to effect activity innate response. TNF- α expression on the macrophage in oral hase been caused aqueous extract from neem was not explained yet. This research is to explained there are TNF- α expression on macrophage in oral wistar There are 4 groups, one group wich was called as controle group (KO) hadn't been fed aqueous extract from neem leaves, the other group which was under treatment classicfied into 3 groups. First group was fed with 50 mg/day/kg body weigth aqueous extracts from neem leaves, until day 21 (KP1), second group was fed with 100 mg/day/kg body weigth aqueous extract from neem leaves, 8 until day 21 (KP2), third group was fed with 200 mg/day/kg body weigth aqueous extract from neem leaves, then until day 21 (KP3). Each group is studied at the day 22 We terminate the rats to take the tongue's net of rats, so we can make supply and painting for immunohistochemistry. The study showed that there were different result computed using anova, HSD test, Linier Regression. Anova shows the significant different ($p < 0,01$) between each groups. The HSD test shows the significant different ($p < 0,05$) each groups. TNF- α be the stakeholders to effort this problems solve, because they are the stimuli sensore from environment, use as parameter to see the effect from the change of innate immune component. aqueous extract from neem leaves increased the macrophage TNF- α expression in oral wistar rats .

Key words : TNF- α ; *Azadirachta Indica* juss ; macrophage; phagocytosis ; innate immune

PENDAHULUAN

Mimba (*Azadirachta Indica*) telah dikenal dan dimanfaatkan masyarakat untuk mengatasi berbagai macam penyakit, seperti : cacangan, kudis, malaria, infeksi jamur, mengatasi tumor dan alergi^{1,2}. Beberapa penelitian membuktikan mimba memodulasi imunitas alami dan adaptif^{3,4,5,6}, sedangkan imunitas alami (fagositosis) terutama makrofag berperan penting dalam melawan *C albicans* yang merupakan penyebab utama kandidiasis mulut^{7,8}. Kandidiasis mulut salah satu penyakit infeksi yang paling banyak dijumpai di rongga mulut (80%)⁷. Penelitian sebelumnya oleh penulis membuktikan perasan daun mimba dapat menghambat pertumbuhan *C albicans* secara *in vitro*⁹. Daun mimba di samping mempunyai khasiat sebagai antimikroba juga berfungsi sebagai imunomodulator. Makrofag sebagai fagosit profesional mengenali dan menghancurkan patogen melalui beberapa reseptor merangsang produksi substansi mikrobial melalui CD14 yang diekspresikan ke permukaan sel, akan

mengaktifkan *Toll-like receptors* (TLRs) serta NF- κ B^{9,10}. Stimulasi sitokin proinflamatori dan aktivasi *innate immunity* tergantung keakuratan pengenalan dari invasi patogen. Oksidatif antara lain dengan cara menghasilkan superoksid dan NO yang dihasilkan sistem iNOS, dimana aktivitas keduanya dapat diinduksi TNF- α , sedangkan aktivitas fagositosis meliputi fungsi penelanan (*fungicidal uptake*) dan pembunuhan intraseluler (fungisidal), sedangkan cara non oksidatif dengan memproduksi sitokin, seperti TNF- α yang dapat memodulasi aktivitas fagositosis^{10,11,12}. Penelitian lain membuktikan ekstrak cair daun mimba dapat meningkatkan jumlah makrofag, sehingga diduga dapat mempengaruhi TNF α yang merupakan sitokin yang berperan mengaktifasi fagositosis¹³, sehingga menimbulkan suatu rumusan masalah : Bagaimana ekspresi TNF- α di rongga mulut tikus wistar yang diberi konsumsi ekstrak cair daun mimba ?

¹Dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

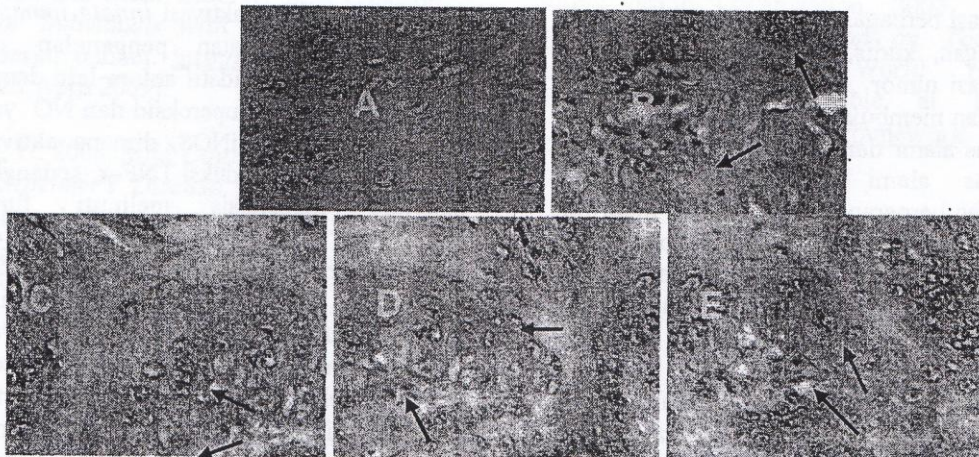
METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratoris dengan jumlah sampel 20 ekor tikus Wistar jantan, yang memenuhi "Declaration of Helsingki", dengan berat 100-200 gr, usia 2-3 bulan yang dilakukan adaptasi 1 minggu, terdapat 4 kelompok yang terbagi menjadi kelompok kontrol (KO) yang tidak diberi konsumsi ekstrak cair daun mimba, kelompok perlakuan yang terdiri dari : kelompok yang diberi konsumsi ekstrak cair daun mimba dosis 50 mg/hari/kg berat badan, sampai hari ke 21 (KP1), kelompok yang diberi konsumsi ekstrak cair daun mimba dosis 100 mg/hari/kg berat badan, sampai hari ke 21 (KP2), kelompok yang diberi konsumsi ekstrak cair daun mimba dosis 200 mg/hari/kg berat badan, sampai hari ke 21 (KP3). Masing-masing kelompok dilakukan pengamatan pada hari ke 22 tikus dikorbankan dan dilakukan pengambilan jaringan lidah tikus untuk dibuat sediaan, kemudian dilakukan analisis TNF- α dengan metode imunohistokimia, yaitu : dilakukan deparanisasi menggunakan xylol, xylol dihilangkan dengan etanol mulai absolut sampai 70%, air, dan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) pH 7,4 dan diberi tripsin 0,0 25%. Preparat digenangi larutan H₂O₂ 3%, dicuci

dengan PBS 2x dan dilakukan proses bloking dengan BSA 3%. *Anti mouse TNF- α* direaksikan, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 4°C dalam *humidity chamber*. Kemudian direaksikan dengan *biotiyilized secondary Ab (anti rabbit)*. Dicuci 3x dengan PBS, dan ditambahkan streptavidin berlabel peroksidase dan diinkubasi selama 1 jam. Dilakukan pencucian kembali dengan PBS 3x, direaksikan dengan substrat DAB (*Diamine Benzidine*), kemudian ditambahkan "Meyer-HE". Data yang diperoleh dianalisis dengan Anova dan dilanjutkan Uji HSD.

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian (gambar 1) menunjukkan ekspresi TNF- α pada makrofag pada kelompok yang diinokulasi *C albicans* terjadi penurunan disbanding kontrol, sedangkan kelompok perlakuan dengan ekstrak cair daun mimba terjadi peningkatan, dimana semakin tinggi dosis ekstrak mimba yang diberikan semakin tinggi ekspresi TNF- α . Gambar 2 menunjukkan ekspresi TNF- α makrofag pada epitel berjumlah lebih banyak dibandingkan subepitel. Hal ini menunjukkan bahwa mungkin *C albicans* banyak dijumpai di epitel .



Gambar 1. Ekspresi TNF- α pada makrofag di rongga mulut (pembesaran 400x)

Keterangan :

Warna coklat menunjukkan terdapat ekspresi TNF- α (↗)

Warna biru menunjukkan tidak ada ekspresi TNF- α (↖)

A. Kontrol pengecatan (terlihat makrofag yang berwarna biru)

B. Ekspresi TNF- α pada makrofag kelompok Kontrol (K0)

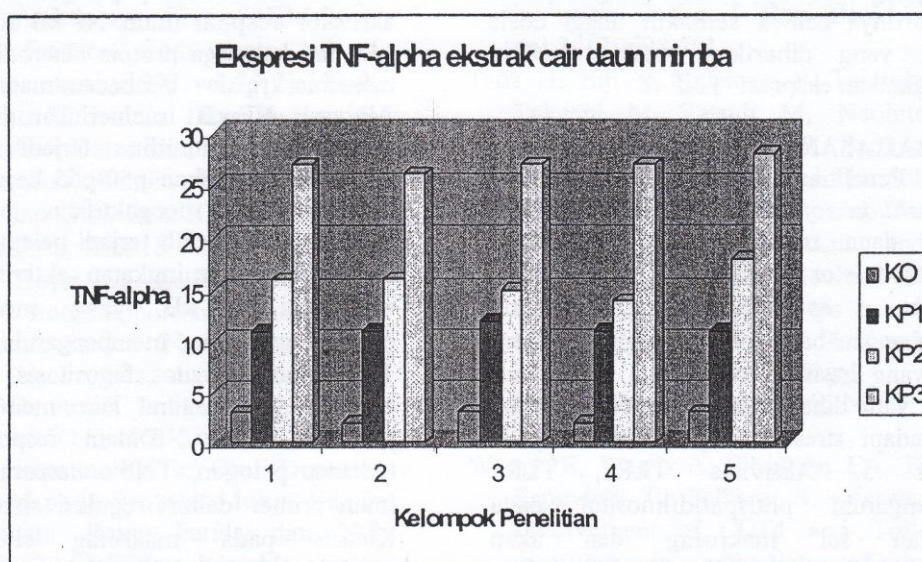
- C. Ekspresi TNF- α pada makrofag kelompok Perlakuan 1 (KP1)
- D. Ekspresi TNF- α pada makrofag kelompok Perlakuan 2 (KP2)
- E. Ekspresi TNF- α pada makrofag kelompok Perlakuan 3 (KP3)



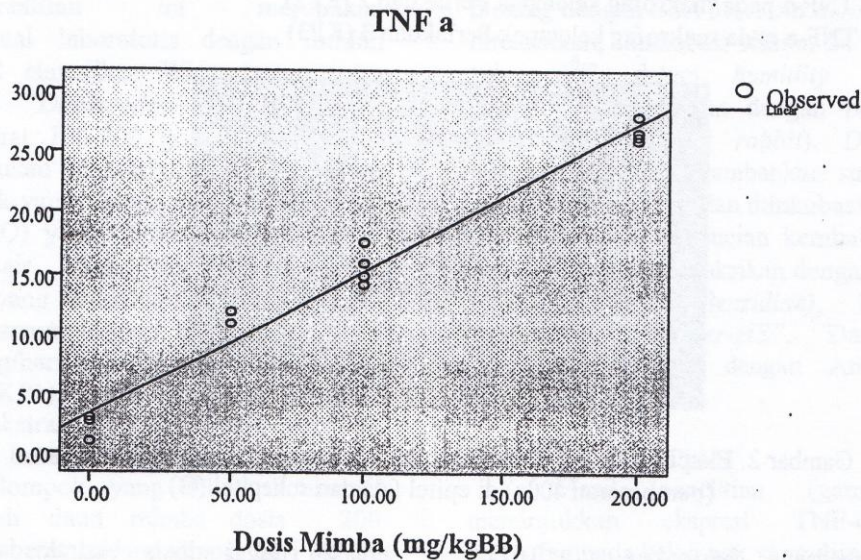
Gambar 2. Ekspresi TNF α pada makrofag dengan teknik imunohistokimia (pembesaran 400x) di epitel (A) dan subepitel (B)

Perbedaan bermakna ($p < 0,01$) terbukti dari hasil manova, begitu juga dari Uji HSD memberikan hasil terdapat perbedaan bermakna. Selanjutnya dilakukan uji korelasi dengan regresi linier menggambarkan hubungan positif yang sangat erat (0,985) (gambar 3), sehingga

semakin tinggi dosis ekstrak cair daun mimba, maka semakin meningkatkan jumlah sel makrofag yang mengekspresikan TNF- α . Pola kontribusi diskriminan menunjukkan kemampuan ekstrak cair daun mimba dengan semakin tinggi dosis yang diberikan, maka TNF- α semakin meningkat.



Gambar 3. Ekspresi TNF- α akibat ekstrak cair daun mimba



Gambar 4 Grafik linier ekspresi TNF- α pada makrofag

Gambar 4 menunjukkan bahwa ekspresi TNF- α (bulatan) terletak di sekitar garis yang lurus ke kanan dengan posisi naik, artinya bahwa semakin tinggi dosis mimba yang diberikan, maka semakin meningkatkan ekspresi TNF- α .

PEMBAHASAN

Penelitian ini telah memenuhi "Declaration of Helsinki" menunjukkan bahwa daun mimba dengan komponen imunomodulator (diduga *galic acid*, *catechin*, *epicatechin*) membangun keseimbangan baru melalui regulasi sistem imun yang hasilnya dapat kita kenali dari produk yang dihasilkan sel makrofag, dalam menghadapi stressor, seperti terlihat pada gambar 5. Aktivitas TLR2, TLR4 mempengaruhi fospatidilinositol pada membran sel makrofag dan akan mengaktifkan protein Rac, selanjutnya akan mengaktifkan NF- κ B dan AP-1 melalui jun kinase melalui jalur MAPK (*The mitogen-activated protein kinase*). Termasuk jalur ini ERK (*Extracellular signal-regulated kinase*), JNK (*c-jun N-terminal kinase*) dan p38. ERK mempengaruhi aktivitas jun, sedangkan p38 mempengaruhi produksi IL-6, IL-8 dan IL-12. Aktivitas p38 dan ERK dapat mengaktifkan AP-1. Ketiga jalur

MAPK dapat diaktivasi dalam waktu yang sama. NF- κ B merupakan regulator dari respons awal terhadap patogen dan sebagai aktivator respons imun. NF- κ B adalah p50-p65 dari keluarga protein heterodimer yang menranskripsi bermacam-macam gen. Aktivasi NF- κ B memerlukan fosforilasi protein I κ B, kemudian terjadi degradasi yang menyebabkan p50-p65 berada dalam nukleus dan mengaktifkan bermacam-macam gen. Setelah terjadi pelepasan I- κ B, maka terjadi peningkatan aktivitas faktor transkripsi NF- κ B yang menstimulasi ekspresi gen yang mempengaruhi produksi TNF- α dan aktivitas fagositosis. Stimulasi ekspresi gen antara lain mempengaruhi produksi TNF- α . Dalam respons imun terhadap patogen, TNF- α berperan sebagai imun primer dalam regulasi sistem imun. Khusus pada makrofag sitokin ini meningkatkan aktivitas dalam membunuh patogen, di mana aksi ini menjadi mediator penting pada inflamasi. TNF- α , IL-6 menginduksi proliferasi netrofil selama inflamasi, apoptosis, deferensiasi, deferensiasi, tumorigenesis, replikasi virus. TNF- α , IL-6 ini diproduksi secara kontinyu oleh sel untuk homeostasis dan akan meningkat dengan tujuan *remodeling* atau *replacement* dari injuri, yang berkaitan

dengan penyakit inflamatori atau noninflamatori^{14,15,16}.

KESIMPULAN

Ekstrak cair daun mimba meningkatkan ekspresi TNF- α di rongga mulut tikus wistar.

DAFTAR PUSTAKA

- Ganguli S.J, Neem : A therapeutic for all seasons. *Current Science*. 2002; p. 82 - 11.
- Goel RK, Sairam K. Anti ulcer drugs from indigenous source with emphasis on *musa sapientum*, *tamrabhasma*, *asparagus racemosus* and *zingiber officinale*. *Indian J of Pharmacology*; 2002. vol.34:100-110.
- Upadhayay D , Gaṛg S, Talwar GP. Oct. *Immunomodulation effects of neem Azadirachta indica* oil. *Int J immunopharmacol.*; 1992. vol.14(7): 1187-93.
- SaiRam K, Sharma SK, Havazhagan G, Kumar D, Selavamurthy W. Jan. Immunomodulatory effect of NIM-76, a volatile fraction from neem oil. *J Ethnopharmacol.*; 1997. vol.55(2):133-9.
- Sastrodihardjo S. Evaluasi Daya Insektisida Dari Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica A. juss*). Seminar Hasil Penelitian Pangan dan Gizi, Ilmu Hayati, 1988. 17 PAU: Jakarta..Hlm:18.
- Sadekar D, Kolte AY, Barnase BS, Desai VF. Nov. Immunopotentiating effects of *Azadirachta indica* (Neem) dry leaves powder in broilers, naturally infected with IBD virus.. *Indian J Exp Biol.*; 1998. vol.36(11):1151-3.
- Lehner, T. *Immunologi of Oral Disease*. *Imunologi pada Penyakit Mulut*. Ed. 3. Terjemahan: Ratna Farida dan NG Suryadhana. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 1992. Hlm: 112-115.
- Roeder A, Carsen J. KirChing, Rudolf A, Rupec, Martin S, Gunther W, Hans CK. December Toll-like receptors as key mediators in innate antifungal immunity. *Issue*. 2004. No. 107; p. 485-498.
- Dewanti Ratna. Daya hambat pertumbuhan *C albicans* oleh Perasan Daun Mimba (*Azadirachta Indica juss*), *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal)*, Edisi khusus Temu Ilmiah Nasional III 6-9 Agustus. 2003. Hlm: 342-344.
- Diamond RD, Caron A. Lyman DR, Wysong. Disparate Effects of Interferon γ and TumorNecrosis Factor α on Early Neutrophil Respiratory Burst and Fungicidal Responses to *Candida albicans* Hyphae in vitro. *J. Clin. Invest.* 1991. vol.87: 711-720.
- Newman SL and Angela H.. *Candida albicans* Is Phagocytosed, Killed, and Processed for Antigen Presentation by human Dendritic Cells. *Infection and Immunity* ; 2001.Vol. 69: No. 11: 6813-6822.
- Ulmann BD, Hadley M, Wiriya C, Anna LL, Qiang Z, Luis AV, Jose L, Lopez R, Paul RG and Michael CG. June. Inducible Defense Mechanism against Nitric Oxide in *Candida albicans*. *Eukaryotic Cell*: 2004. Vol. 3: No. 3: 715-723.
- Ray B, Banerjee BD, Sen P.J, Modulation of humoral and cell-mediated immune responses by *Azadirachta indica* (Neem) in mice. *Indian J Exp Biol.*; 1996. vol.34(7):698-701.
- Tada H, Eiji N, Hidetoshi S, Tshihiko W, Takeshi M, Tatsuji M, Naohito O, Hiroshi T, Ken-ichiro S, Sachiko A, Kensuke M, Shunji S and Haruhiko T. *Sachoromyces cerevisiae* and *Candida albicans* derived Mannan Induced production of Tumor Necrosis Factor alpha by Human monocytes in a CD14 and Toll-Like Receptor 4 dependent Manner. *Mycrobiology and Immunology*, 2002.vol. 46: No. 7: 503-512.
- Wang JE, Warris A, Ellingsen EA, Fio T, Espevick T, Solberg S, Verwe PE, Involvement of CD14 and Toll-Like receptors in activation of human monocyte. 2001.Vol. 69: No. 4: 2402-6.
- Outburg S, Joke S, Janneke EH, Jolande AL, Johan SF, Polein P, Salvador PS, *Journal of Translational Medicine*. *BMC Infectious Diseases*, 2005. vol. 5:114-147