

Kode>Nama Rumpun Ilmu :376/Ilmu Biomedik

EXECUTIVE SUMMARY

PENELITIAN DOSEN PEMULA



**POTENSI EKSTRAK DAUN SINGKONG (*Manihot utilissima*)
DALAM MEMODULASI EKSPRESI COX-2 PADA MONOSIT
YANG DIPAPAR LPS**

Peneliti

drg. Zahara Meilawaty, M.Kes (NIDN 0027058005)

Dibiayai oleh

DIPA Universitas Jember Tahun Anggaran 2013

No. DIPA-023.04.2.414995/2013

**UNIVERSITAS JEMBER
DESEMBER, 2013**

EXECUTIVE SUMMARY

Judul : Potensi Ekstrak Daun Singkong (*Manihot utilissima*) dalam Memodulasi COX-2 pada Monosit yang Dipapar LPS

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : drg. Zahara Meilawaty, M.Kes
NIDN : 0027058005
Sumber Dana : DIPA UniversitasJember
Diseminasi : belum ada
Alamat surel (e-mail) : zhr_mel@yahoo.com
Perguruan Tinggi : Universitas Jember

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Jember, Desember 2013
Ketua,

drg. Zahara Meilawaty, M.Kes
NIP. 198005272008122002

POTENSI EKSTRAK DAUN SINGKONG (*Manihot utilissima*) DALAM MEMODULASI EKSPRESI COX-2 PADA MONOSIT YANG DIPAPAR LPS

Zahara Meilawaty

Bagian Biomedik

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Jember-Indonesia

ABSTRACT

Background : The lipopolysaccharide able to cause stimulation of the immune cells, both in vitro and in vivo, this substance has important clinical relevance because of their direct role in the pathogenesis of infection. Infections caused by the activity of bacteria can cause in the body 's defense response. Immune response that acts as a first line of defense against invading bacteria are neutrophils and mononuclear cells (monocytes and macrophages). The role of monocytes when infections are leaving the bloodstream and move into the network to identify and kill pathogens by attacking larger pathogens through direct contact and then killing microorganisms. Cassava leaf cells known to play a role in reducing inflammation, but the mechanism for inhibiting COX-2, an enzyme that is induced during inflammation is unknown mechanism . **Objective**: To analyze the effect of cassava leaf extract on the expression of the enzyme cyclooxygenase 2 (COX-2) on monocytes were exposed to LPS. **Materials and Methods** : This study is an experimental study in vitro with the design of The posttest only control group design . The independent variable is the extract of the leaves of cassava (*Manihot utilissima*) at a dose of 12.5 % and 25 %. Control variable is the type and concentration of monocytes and LPS and research procedures. COX-2 expression was analyzed by immunocytochemistry method. Broadly speaking, isolated monocytes were incubated cassava leaf extract, and then exposed to LPS, after washing imunostaning procedure is then performed using a monoclonal antibody (MAb) anti- human COX-2. The research data is the number of monocytes that express COX-2. **Result** : Expression of COX-2 in the group cassava leaf extract is higher than the group that only LPS induced . **Conclusion** : cassava leaf extract modulates the expression of COX-2.

Keywords : COX-2 , cassava leaves , LPS

Correspondent : Zahara Meilawaty , Departement Biomedical Faculty of Dentistry, University of Jember . Jl . Kalimantan 37 Jember . e - mail : zhr_mel@yahoo.com

ABSTRAK

Latar Belakang : Lipopolisakarida mampu menimbulkan stimulasi pada sel-sel imun, baik *in vitro* maupun *in vivo*, substansi ini mempunyai relevansi klinis yang penting karena berperan langsung dalam patogenesis infeksi. Infeksi yang diakibatkan aktivitas bakteri dapat menimbulkan respon pertahanan didalam tubuh. Respon imun yang berperan sebagai garis pertahanan pertama terhadap invasi bakteri adalah netrofil dan sel mononuklear (monosit dan makrofag). Peran monosit ketika terjadi infeksi adalah meninggalkan aliran darah dan bergerak ke dalam jaringan untuk mengidentifikasi dan membunuh patogen dengan menyerang patogen yang lebih besar melalui kontak langsung kemudian membunuh mikroorganismenya. Daun singkong diketahui berperan dalam menurunkan sel radang, tetapi mekanisme dalam menghambat COX-2, yaitu enzim yang diinduksi sewaktu peradangan belum diketahui mekanismenya. **Tujuan:** menganalisis efek ekstrak daun singkong terhadap ekspresi enzim *cyclooxygenase 2* (COX-2) pada monosit yang dipapar LPS. **Bahan dan Metode:** Penelitian ini merupakan studi eksperimental *in vitro* dengan rancangan *The posttest only control group design*. Variabel bebas adalah ekstrak daun singkong (*Manihot utilissima*) dengan dosis 12,5% dan 25%. Variabel kendali adalah jenis dan konsentrasi monosit dan LPS serta prosedur penelitian. Ekspresi COX-2 dianalisis dengan metode imunositokimia. Secara garis besar, isolat monosit diinkubasi ekstrak daun singkong, kemudian dipapar LPS, setelah pencucian kemudian dilakukan prosedur imunostaining menggunakan antibodi monoklonal (Mab) anti human COX-2. Data penelitian adalah jumlah monosit yang mengekspresikan COX-2. **Hasil:** Ekspresi Cox-2 pada kelompok ekstrak daun singkong lebih tinggi dibandingkan kelompok yang hanya diinduksi LPS. **Kesimpulan:** Ekstrak daun singkong memodulasi ekspresi COX-2.

Kata Kunci : cox-2, daun singkong, LPS

Koresponden : Zahara Meilawaty, Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Jl. Kalimantan No.37 Jember. e-mail: zhr_mel@yahoo.com

PENDAHULUAN

Lipopolisakarida (LPS) adalah salah satu penyebab terjadinya kelainan periodontal. Bahan ini merupakan struktur utama dinding sel bakteri gram negatif anaerob yang berfungsi untuk integritas struktur bakteri dan melindungi bakteri dari sistem pertahanan imun *hospes*¹. Lipopolisakarida mampu menimbulkan stimulasi pada sel-sel imun, baik *in vitro* maupun *in vivo* substansi ini mempunyai relevansi klinis yang penting karena berperan langsung dalam patogenesis infeksi bakteri gram negatif². Infeksi yang diakibatkan aktivitas bakteri dapat menimbulkan respon pertahanan didalam tubuh berupa respon imun spesifik maupun non spesifik. Respon imun yang berperan sebagai garis pertahanan pertama terhadap invasi bakteri adalah netrofil dan sel mononuklear (monosit dan makrofag).

Sel darah yang berfungsi sebagai sistem kekebalan bagi tubuh adalah leukosit. Leukosit bergerak bebas dalam darah sebagai organisme selular bebas pada sistem kekebalan tubuh. Leukosit terdiri dari fagosit makrofag, neutrofil, sel dendritik, sel mast, eosinofil, basofil dan sel pembunuh alami yang merupakan mediator penting pada sistem kekebalan adaptif. Monosit merupakan jenis leukosit yang membentuk makrofag Peran monosit ketika terjadi infeksi adalah meninggalkan aliran darah dan bergerak ke dalam jaringan untuk mengidentifikasi dan membunuh patogen dengan menyerang patogen yang lebih besar melalui kontak langsung kemudian membunuh mikroorganisme. Monosit bertindak sebagai fagosit yang berperan dalam merespon adanya bakteri patogen, sehingga viabilitas monosit menjadi faktor penting pada sistem kekebalan tubuh³.

Selama ini, masyarakat hanya mengenal daun Singkong sebagai sayuran dan bahan makanan. Masyarakat kurang mengetahui bahwa daun Singkong memiliki banyak manfaat di dunia kesehatan karena memiliki kandungan vitamin C yang

tinggi, senyawa organik flavonoid, triterpenoid, tanin serta saponin. Flavonoid dan saponin sejak lama diketahui memiliki aktivitas antimikroba dan antivirus. Demikian juga triterpenoid yang sering ditemukan pada banyak tanaman obat dan diketahui memiliki aktivitas antivirus dan antibakteri, serta dapat mengobati kerusakan pada kulit⁴. Flavonoid yang diisolasi dari daun Singkong sebesar 100-200 µg/ml dapat mengurangi degranulasi sel mast yang diinduksi senyawa 48,80 albumin pada sebuah penelitian *in vitro*⁵. Sebuah penelitian uji analgesik juga menyebutkan bahwa dosis ekstrak daun Singkong sebesar 25,6 mg/kg BB adalah dosis yang paling banyak menurunkan *writhings reflex* pada mencit yang diinduksi asam asetat 0,6%⁶.

Daun Singkong memiliki kandungan vitamin C tertinggi diantara sayuran lain, bahkan dibandingkan buah jeruk. Konsumsi vitamin C sangat bermanfaat dalam proses penyembuhan luka karena dapat mempengaruhi tingkat keparahan respon inflamasi dan kualitas penyembuhan^{7,8}. Penelitian lain juga telah membuktikan bahwa vitamin C dapat menurunkan jumlah neutrofil pada proses penyembuhan luka tikus Wistar jantan⁹. Tetapi mekanisme kerja ekstrak daun singkong itu sendiri terhadap ekspresi enzim *COX-2*, yaitu enzim yang berperan pada saat terjadinya inflamasi sampai saat ini belum diketahui. Berdasarkan uraian di atas, timbul suatu permasalahan bagaimana potensi ekstrak metanolik daun singkong terhadap ekspresi *COX-2* pada model inflamasi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan studi eksperimental *in vitro* dengan rancangan *The posttest only control group design*. Variabel bebas adalah ekstrak daun singkong (*Manihot utilissima*) dengan dosis 12,5% dan 25%. Variabel tergantung adalah

ekspresi COX-2 pada monosit. Variabel terkendali adalah jenis dan konsentrasi monosit dan LPS serta prosedur penelitian.

Daun Singkong (*Manihot utilissima*) yang digunakan didapatkan dari daerah Tempurejo, Kecamatan Tempurejo Jember. Daun yang diambil adalah daun yang masih hijau, utuh dan berada di bagian tengah pohon untuk menghindari kandungan sianida yang berlebihan pada daun yang terlalu muda. Daun singkong terlebih dahulu diidentifikasi di *Herbarium Jemberiense*, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Jember. Untuk pembuatan ekstrak, daun Singkong dicuci bersih, dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 24 jam di dalam ruangan dengan suhu ruang, yang tidak terkena sinar matahari secara langsung, kemudian dioven selama 3 jam dalam suhu 45⁰C. Setelah itu, daun yang kering tersebut digiling menggunakan blender, diayak dengan ayakan 50 *maze* sehingga didapatkan serbuk halus sebanyak total 400 gram serbuk daun. Setelah itu, serbuk daun dimaserasi dengan etanol 95% selama 2 hari dan dilakukan pengadukan setiap hari. Selanjutnya, larutan tersebut dipekatkan dengan rotavapor (*rotary evaporator*) dengan suhu 50⁰C dan putaran 90 rpm menjadi ekstrak daun Singkong dengan konsentrasi 100%. Penyimpanan ekstrak 100% ini diletakkan dalam kulkas.

Isolasi monosit dilakukan dengan metode *ficoll hypaque centrifugation*¹⁰. Sebanyak 12 cc darah (*heparinized whole blood*) dibagi menjadi dua, sentrifuse 600 rpm selama 10 menit, RT (*room temperature*). Serum yang mengandung platelet dipisahkan, sisa darah diencerkan dengan HBSS sehingga menjadi 9 cc. Setelah itu menyiapkan dua tabung falcon, masing-masing diisi dengan 3 cc ficol. Selanjutnya melapiskan darah (secara berhati-hati) di atas lapisan ficol dengan mikropipet. Darah

yang telah dilapiskan disentrifuse selama 30 menit, 1400 rpm, sehingga terbentuk 4 lapisan dari atas ke bawah adalah (plasma, mononuklear, ficol dan polinuklear +RBC). Lapisan mononuklear (*interface* plasma-ficol) yang mengandung limfosit dan monosit dipisahkan dan dimasukkan dalam tabung falcon. Kemudian dicuci dengan HBSS dan disentrifuse 600 rpm, 10 menit, sebanyak 2 kali untuk menghilangkan kontaminan platelet. Hasil pencucian diresuspensi dalam HBSS sebanyak 2500 μ l, kemudian dilakukan pipeting. Suspensi sel-sel mononeklear kemudian dilapiskan pada *plastic microplate (24 well)* yang didasarnya telah diberi *cover slip* sebanyak 100 μ l tiap *well*, kemudian diinkubasi selama 1 jam, 37°C. Medium inkubasi yang mengandung limfosit dibuang, sisanya yang mengandung monosit dicuci 3 x dengan HBSS. Hasil pencucian pelet monosit diresuspensi dengan RPMI sebanyak 1000 μ l tiap *well*. Kemudian tambahkan penstrep (5 μ l dan fungison 5 μ l) pada tiap *well*, pipeting medium secara hati-hati, monosit siap untuk diinkubasi dengan daun singkong.

Suspensi isolat monosit, masing-masing dibagi menjadi 4 kelompok uji (masing-masing terdiri dari 3 *well*) yaitu: (1) K = kontrol, tidak diinkubasi EDS, tetapi ditambahkan RPMI 1000 μ l; (2) P1= tidak diinkubasi EDS, tetapi ditambahkan RPMI 1000 μ l; (3) P2= diinkubasi EDS 12,5% (sebanyak 200 μ l); (4) P3= diinkubasi EDS 25% (sebanyak 200 μ l). Inkubasi dilakukan dalam inkubator shaker dengan 5% CO₂, 37°C selama 18 jam. Setelah 18 jam, isolat monosit pada kelompok 2, 3 dan 4 kemudian dipapar dengan *LPS* sebanyak 5 μ l tiap *well* kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C dan 5% CO₂.

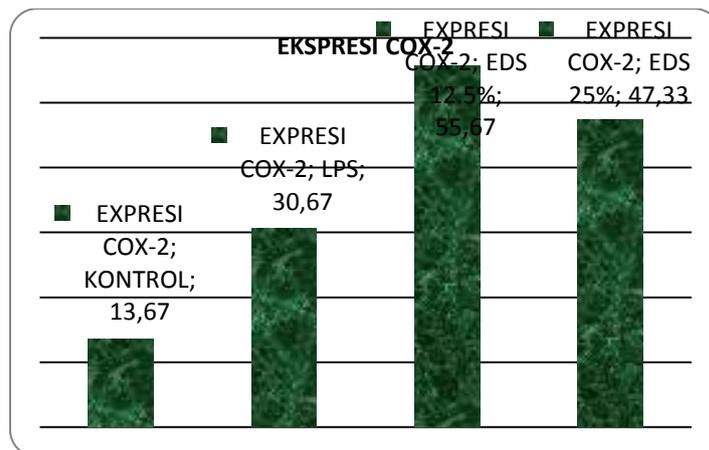
Setelah inkubasi pemaparan *LPS* selama 1 jam, dilakukan pencucian. Kemudian dilakukan prosedur imunostaning menggunakan antibodi monoklonal (Mab) anti

human COX-2. Ekspresi COX-2 dianalisis dengan metode imunositokimia. Ekspresi COX-2 ditunjukkan oleh monosit yang membran selnya berwarna coklat, pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Data penelitian adalah jumlah rata-rata monosit yang mengekspresikan COX-2 dihitung per 100 sel.

Data penelitian diuji normalitasnya menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan homogenitasnya menggunakan uji *Levene*. Selanjutnya dilakukan uji parametrik menggunakan uji *One-way Anova* untuk mengetahui perbedaan ekspresi COX-2 dan dilanjutkan dengan uji LSD untuk membandingkan ekspresi COX-2 monosit antar kelompok percobaan.

HASIL PENELITIAN

Ekspresi COX-2 dilihat menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Data penelitian adalah jumlah rerata monosit yang mengekspresikan COX-2 dihitung per 100 sel. Rerata dan simpangan baku ekspresi COX-2 pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 1. Grafik batang rerata ekspresi COX-2 berdasarkan kelompok perlakuan

Gambar 1 memperlihatkan bahwa rerata ekspresi COX-2 tertinggi terdapat pada kelompok ekstrak daun singkong 12,5%, dan terendah terdapat pada kelompok

kontrol. Data yang didapat diuji normalitasnya terlebih dahulu menggunakan uji *Shapiro-Wilk* sebelum dianalisis menggunakan uji parametrik. Rangkuman hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel 1 berikut :

Tabel 1. Hasil uji normalitas ekspresi COX-2

	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Statistik	df	Sig.
Ekspresi COX-2	.929	12	.371

Keterangan: df : degree of freedom

Sig: signifikansi

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data yang diuji mempunyai nilai sig 0.344 ($p > 0.05$), ini berarti data terdistribusi secara normal sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik. Oleh karena itu, selanjutnya diuji dengan menggunakan uji parametrik *One-way Anova* yang rangkumannya dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rangkuman hasil uji *One-way Anova* potensi ekstrak daun singkong (*Manihot utilissima*) dalam memodulasi COX-2 pada monosit yang dipapar LPS

	F	Sig.
Between group	12,255	0.002

Tabel 2 memperlihatkan bahwa ekspresi COX-2 pada masing-masing perlakuan mempunyai perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$). Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan ekspresi COX-2 antara masing-masing kelompok dilakukan uji *LSD*. Rangkuman hasil uji *LSD*, dapat dilihat pada Tabel 3 berikut ini:

Tabel 3. Rangkuman hasil uji *LSD* potensi ekstrak daun singkong (*Manihot utilissima*) dalam memodulasi COX-2 pada monosit yang dipapar LPS

	Kontrol	LPS	EDS 12,5%	EDS 25%
Kontrol		.054	.001*	.002*
LPS			.010*	.058
EDS 12,5%				.300
EDS 25%				

Tabel 3 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok ekstrak daun singkong 12,5%, kelompok kontrol dengan kelompok ekstrak daun singkong 25%, kelompok LPS dengan kelompok ekstrak daun singkong 12,5%.

PEMBAHASAN

Penelitian ini adalah penelitian *in vitro* yang menggunakan sel monosit. Hasil penelitian yang terlihat pada gambar 1 menunjukkan bahwa rerata ekspresi *COX-2* pada kelompok yang diinduksi LPS dan ekstrak daun singkong menunjukkan kecenderungan yang lebih banyak dibandingkan kelompok yang hanya diberi LPS ataupun kelompok control. Uji *One-way Anova* (Tabel 2) juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun singkong 12,5% dan 25% mempunyai pengaruh yang bermakna terhadap peningkatan ekspresi *COX-2*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun singkong 12,5% dan 25% tidak menghambat ekspresi *COX-2* pada sel monosit yang diinduksi LPS *E.coli*. Hasil ini tidak sesuai dengan hipotesis, bahwa pemberian ekstrak daun singkong dapat menghambat ekspresi *COX-2* pada sel monosit yang diinduksi LPS *E.coli*.

Lipopolisakarida bersifat endotoksik karena LPS mengikat reseptor CD14/*Toll-like receptor-4* (TLR4) yang mengakibatkan sekresi sitokin proinflamasi dari beberapa tipe sel. CD14 merupakan reseptor permukaan sel pada makrofag dan monosit untuk karbohidrat. Makrofag yang berikatan dengan bakteri oleh karena adanya CD14, akan mensekresi sitokin [interleukin-1 α (IL-1 α), IL-1 β , IL16, *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) dan *mediator lipid inflammation* yaitu prostaglandin (PGE₂)]¹. Keadaan inflamasi membuat ekspresi *COX* akan meningkat, baik *COX 1* maupun *COX-2*. *COX 1* merupakan enzim yang ditemukan di banyak sel dan

jaringan normal, sedangkan *COX-2* baru akan terbentuk setelah diinduksi oleh sitokin dan mediator inflamasi lainnya di daerah inflamasi ^{11,12}.

Daun Singkong sudah cukup dikenal sebagai tanaman obat di dataran Amerika Selatan maupun di beberapa daerah Indonesia, terutama sebagai analgesik maupun antiinflamasi ^{13,14}. Kandungan organik di dalamnya, yaitu flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid, mampu berperan dalam menekan proses peradangan ⁴.

Potensi flavonoid dalam menekan inflamasi adalah dengan jalan memblokir siklus siklooksigenase (*COX*) dan lipoksigenase, sehingga sel radang yang bermigrasi terbatas dan tanda-tanda klinis peradangan berkurang. Flavonoid juga dapat bertindak melindungi lipid membran terhadap agen yang merusak ⁴. Diduga aksi ini yang menjaga membran sel tidak mudah dirusak bakteri dan tetap berfungsi dengan baik.

Saponin selama ini diketahui dapat bekerja sebagai antibakteri. Ketika berinteraksi dengan sel bakteri, saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga terjadi hemolisis sel bakteri. Saponin juga memiliki efek antiinflamasi yang hampir sama dengan flavonoid, memblokir jalur prostaglandin sebagai penghambat aktifasinya, namun tidak berpengaruh terhadap sintesisnya. Dengan dihambatnya pelepasan prostaglandin maka keluarnya sel-sel radang dapat ditekan ⁴. Adanya saponin dalam ekstrak daun singkong diduga dapat mendukung proses penyembuhan luka lebih cepat dengan meminimalisir kontaminasi bakteri sehingga epitel dapat bermitosis dan berproliferasi dengan baik.

Tannin dan triterpenoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan pada beberapa tanaman obat ⁵. Antioksidan berperan menangkap radikal bebas yang dapat

menyebabkan kerusakan membran sel. Cedera pada membran sel tersebut kemudian mengaktifkan histamin yang nantinya menjadi mediator sel radang¹⁵. Antioksidan di dalam tannin dan triterpenoid diduga dapat mengurangi adanya radikal bebas yang dapat merusak membran sel dan mengurangi pelepasan mediator sel radang.

Pada penelitian ini, didapatkan ekspresi COX-2 pada kelompok kontrol sangat sedikit atau paling rendah. Hal ini disebabkan karena pada kelompok kontrol tidak diinduksi LPS sehingga seharusnya sel monosit tidak mengekspresikan COX-2. Adanya ekspresi COX-2 pada kelompok kontrol ini diduga disebabkan karena adanya kontaminasi bakteri lain sewaktu isolasi monosit.

Pada kelompok yang diinduksi LPS menurut teori seharusnya paling banyak mengekspresikan COX-2 karena LPS bisa menginduksi inflamasi atau peradangan. Tetapi pada hasil penelitian ini, ekspresi COX-nya hanya sedikit, secara statistik tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol. Hal ini diduga karena induksi LPS pada sel monosit terlalu banyak sehingga banyak sel monosit yang lisis atau mati. Hal ini diperkuat dengan hasil uji viabilitas yang menunjukkan nilai 24,56 %, ini berarti hanya ada sekitar 25 sel monosit yang hidup dari 100 sel monosit yang diamati. Sel monosit yang lisis atau mati sudah pasti tidak dapat merespon antibody COX-2 dan tidak dapat mengekspresikan COX-2, sehingga pada penelitian ini hasil ekspresi COX-2 pada kelompok yang hanya diinduksi LPS hanya sedikit, lebih rendah daripada kelompok yang diberi ekstrak daun singkong.

Ekspresi COX-2 pada kelompok yang diberi ekstrak daun singkong lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok yang diinduksi LPS. Hal ini diduga karena sel monosit yang telah diberi ekstrak daun singkong lebih tahan terhadap induksi LPS sehingga banyak sel monosit yang hidup. Hal ini juga

diperkuat dengan hasil pengamatan viabilitas yang kelompok ekstrak daun singkong yang lebih besar dibanding kelompok yang diinduksi LPS. Ekspresi COX-2 paling tinggi terdapat pada kelompok yang diberi ekstrak daun singkong 12,5%. Penulis mengasumsikan bahwa ini disebabkan nilai viabilitas sel monosit yang tinggi pula yaitu sebesar 62,65%. Pada kelompok yang diberi ekstrak daun singkong 25% memperlihatkan ekspresi COX-2 yang lebih rendah dibanding kelompok yang diberi ekstrak daun singkong 12,5%. Hal ini diasumsikan karena ekstrak daun singkong 25% mempunyai toksisitas yang lebih tinggi. Konsentrasi obat atau bahan alami yang besar dapat menyebabkan toksisitas yang besar pula, sehingga dapat melisiskan sel monosit. Hasil ini diperkuat dengan nilai viabilitas sel monosit yang diberi ekstrak daun singkong 25% sebesar 43,44%, berarti hanya terdapat sekitar 44 sel monosit yang hidup dari 100 sel.

Penelitian ini adalah penelitian invitro sehingga sel monosit yang sudah lisis tidak dapat meregenerasi selnya kembali, dan juga karena waktu hidup monosit disirkulasi darah pendek hanya 8 jam. Berdasarkan penjelasan di atas maka diketahui bahwa ekstrak daun singkong (*Manihot utilissima*) dapat memodulasi dan melindungi sel monosit dari induksi LPS *E.coli*, sehingga dapat digunakan sebagai obat alternative untuk mengatasi peradangan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian ekstrak daun singkong tidak dapat menghambat ekspresi COX-2 pada sel monosit yang diinduksi LPS *E.coli*, tetapi dapat memodulasi dan melindungi sel monosit yang diinduksi LPS *E.coli*. Namun, masih diperlukan penelitian lebih

lanjut untuk mengisolasi senyawa aktif daun singkong yang memodulasi COX-2 pada sel monosit yang diinduksi LPS *E.coli*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Diucapkan terimakasih kepada Rektor dan Ketua Lembaga Penelitian Universitas Jember yang telah memberikan bantuan dana melalui dana DIPA Universitas Jember tahun 2013 sehingga terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Indahyani, D.E., Santoso, A.S., Utoro, T., dan H.N.E., M. 2007. Pengaruh Induksi Lipopolisakarida (LPS) terhadap Osteopontin Tulang Alveolaris Tikus pada Masa Erupsi Gigi. *Ind. J. Dent.* 14 (1): 2-7.
2. Susilowati, H., Haniastuti, T., Santoso, A. S. 2009. Produksi Nitrat Oksida dan Aktivitas Fagositosis Makrofag Mencit Setelah Stimulasi dengan Lipopolisakarida. *Maj. Ked. Gigi.* 16 (1): 19-24.
3. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2007. Buku ajar Patology Robbins. Ali Bahasa : Brahm U Pendit. Ed. 7. Jakarta : EGC
4. Robinson, T. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi 6. Alih bahasa oleh Kosasih Padmawinata. 1995. Bandung: ITB
5. Adi, L. T. 2006. *Tanaman Obat dan Jus Untuk Asam Urat dan Rematik*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
6. Miladiyah, I., Dayi, F. dan Desrini, S. 2011. Analgesic activity of ethanolic extract of *Manihot esculenta* Crantz leaves in mice. *Universa Medicina*, 30 (1): 3-10.
7. Yendriwati.2006. *Kebutuhan Vitamin C dan Pengaruhnya Terhadap Kesehatan Tubuh dan Rongga Mulut*. *Dentika Dental Journal* Vol. II. No. 1 : 78-83
8. Robbins, S.L., Cotran, R.S., Kumar, V., 2003, *Basic Pathology*, 7th ed, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 33-78
9. Isgianto, W. A. 2005. "Pengaruh Vitamin C Terhadap Jumlah Neutrofil PMN pada Proses Penyembuhan Luka pada Gingiva Tikus (*Rattus norvegicus*)". Tidak diterbitkan. Skripsi. Jember: Universitas Jember Fakultas Kedokteran Gigi.
10. Purwanto. 2010. Peran *Streptococcus mutans* dan monosit pada degradasi kolagen tipe IV dan agregasi Platelet. Disertasi, Universitas Brawijaya.
11. Isbagio, H., 1992, "Peranan Obat Antiinflamasi Non Steroid terhadap Nyeri dan Inflamasi pada Penyakit Reumatik", *Cermin Dunia Kedokteran*, No 78:32-35
12. Goodman, Gilman, 2001, *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10th ed, Mc Graw Hill, Toronto, 687-71
13. Sudirga, S. K. 2004. Pemanfaatan Tumbuhan Sebagai Obat Tradisional di Desa Trunyan Kecamatan Kintamani Kabupaten Bangli. E;jurnal;bumi-

lestari/rtf;sangket.doc/12. <http://ejournal.unud.ac.id/abstrak/pemanfaatan.pdf>. [12 Mei 2012].

14. Widiyati, E. 2006. Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid dan Uji Aktivitas Biologis pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu. *Jurnal Gradien*, 2 (1): 116-122.
15. Price, S. A. dan Wilson, L. M. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Volume 1*. Edisi 6. Alih bahasa oleh Brahm U. Pendit, *et al.* 2005. Jakarta: EGC.