

**PENGARUH TEMPE TERHADAP KEMAMPUAN FAGOSITOSIS
MAKROFAG**

Studi Eksperimental pada Mencit Jantan Strain Balb/c

Karya Tulis Ilmiah

untuk memenuhi sebagian persyaratan
untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Diajukan oleh :
Noven Afiyata Nugraha
01.207.5403

kepada

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2011

**KARYA TULIS ILMIAH
PENGARUH TEMPE TERHADAP KEMAMPUAN FAGOSITOSIS
MAKROFAG**

**Studi Eksperimental pada Mencit Jantan Strain Blb/c
Yang dipersiapkan dan disusun oleh
Noven Afiyata Nugraha
01 207 5403**

Telah dipertahankan di depan dewan penguji
pada tanggal 11 Maret 2011
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

Anggota Tim Penguji


dr. H. Hadi Sarosa, M.Kes.


dr. Minidian Fasitasari, M.Sc.

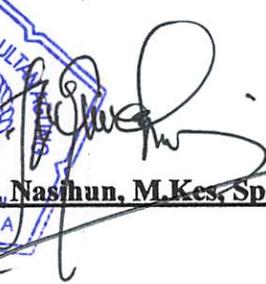
Pembimbing II


Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes.


Dra. Endang Lestari, M. Pd.

Semarang, Maret 2011

Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,


Dr. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp.And

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hikemampuan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.

Karya tulis ilmiah yang berjudul "Pengaruh tempe terhadap fagositosis makrofag pada mencit jantan strain Balb/c" disusun untuk memenuhi persyaratan dalam mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Selesainya penyusunan karya tulis ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M. Kes, Sp. And, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah mengijinkan penyusunan karya tulis ilmiah ini.
2. dr. H. Hadi Sarosa, M.Kes, selaku dosen pembimbing I yang telah membagikan ilmu hidup dan terus memberi semangat untuk terus berjuang.
3. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes, selaku dosen pembimbing II yang telah membimbing dengan penuh kesabaran dan terus memberi semangat serta membagi pengalaman hidup.

4. dr. Minidian Fasitasari, MSc, selaku dosen penguji I yang dengan murah hati membagi ilmu dan terus memberikan saran dan pengarahan.
5. Dra. Endang Lestari, MPd.Ked selaku dosen penguji II yang telah memberikan saran dan motivasi untuk disiplin waktu dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
6. Orang tua kami, Bp. Nugroho Umar dan Ibu Khodijah yang telah menjadi motivasi penulis dalam menyelesaikan pendidikan serta senantiasa membeikan doa, semanagat dan dukungan baik secara moral , material maupun spiritual dengan penuh kasih sayang dan pengorbanan serta adik kami Dwi Jayanti Ratna Nugraheni yang sentiasa memberikan semangat.
7. Semua teman – teman di fakultas kedokteran, teman-teman asisten dosen fisiologi dan pihak – pihak yang belum tertulis diatas, yang telah membantu hingga terselesaikannya karya tulis ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan.

Karena itu penulis sangat berterima kasih atas kritik dan saran yang bersifat membangun. Besar harapan karya tulis ilmiah ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi serta memberi manfaat bagi para pembaca.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, 4 Maret 2011

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN	ii
PRAKATA	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR GAMBAR	x
INTISARI	xi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Kemampuan fagositosis makrofrag	5
2.1.1 Definisi	5
2.1.2. Sintesis Makrofag.....	6
2.1.3. Proses Fagositosis	6
2.1.4. Faktor yang mempengaruhi fagositosis	7
2.1.5 Cara penghitungan fagositosis	9

2.2. Tempe	10
2.2.1 Definisi	10
2.2.2 Kandungan Tempe	11
2.3. Obat Imunomodulator	14
2.4. Pengaruh Tempe Terhadap Kemampuan Fagositosis Makrofag	15
2.5. Kerangka Teori	17
2.6. Kerangka Konsep	17
2.7. Hipotesis	17

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	18
3.2. Variabel dan Definisi Operasional	18
3.2.1. Variabel Penelitian	18
3.2.2. Definisi Operasional	18
1. 3.3. Populasi dan Sampel	19
3.3.1 Populasi Penelitian	19
3.3.2 Sampel Penelitian	19
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian	20
3.5. Cara Penelitian	22
3.6. Alur penelitian	27
3.7. Tempat dan Waktu	28
3.8. Analisis Hasil	28

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian..... 29

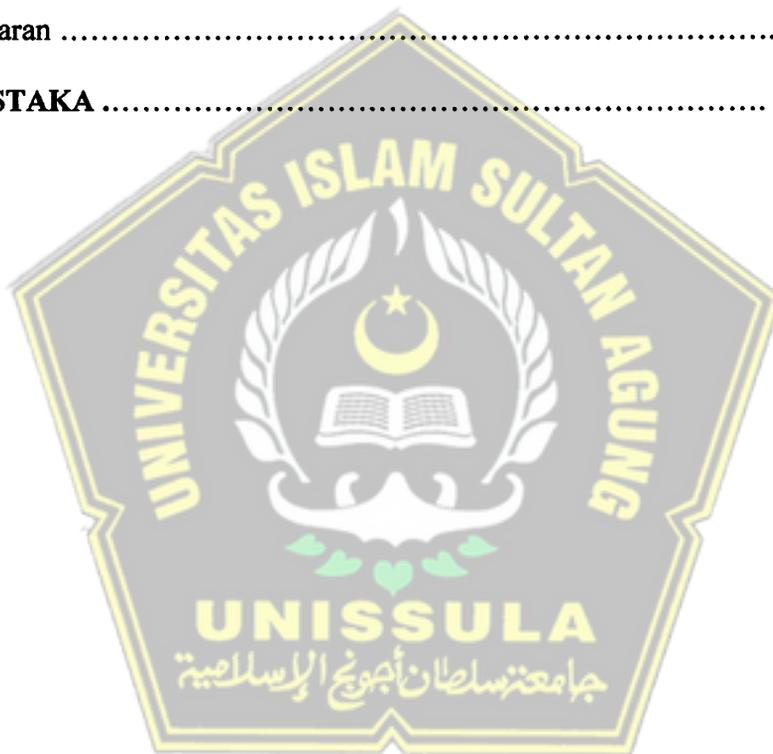
4.2. Pembahasan 30

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan 37

5.2. Saran 38

DAFTAR PUSTAKA 39



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Kandungan Zat Gizi Tempe.....	11
Tabel 2.2. Macam Kadar Isoflavone pada berbagai produk kedelai.....	13



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Jumlah Rerata Sel Fagosit dan Non Fagosit pada mencit Balb/c Menggunakan <i>Latex Beads Method</i>	44
Lampiran 2. Hasil Analisis Data dengan SPSS 13.0 for Windows.....	45
Lampiran 3. Foto Pelaksanaan Penelitian dan Surat Keterangan.....	50



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Proses Sonde Mencit	50
Gambar 2. Kandang Mencit	50
Gambar 3. Gambaran Mikroskopis Makrofag yang diinduksi latex kontrol negatif	51
Gambar 4. .Gambaran Mikroskopis Makrofag yang diinduksi latex kontrol perlakuan.....	51



INTISARI

Konsumsi tempe secara teratur dapat meningkatkan kadar isoflavon dalam tubuh yang mampu mempengaruhi IFN γ dan *Macrophage Activating Factor (MAF)* sehingga menyebabkan peningkatan kemampuan fagositosis makrofag. Fagositosis makrofag memberi gambaran mengenai kemampuan makrofag sebagai sel fagosit lini pertama untuk mencerna partikel asing. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh tempe terhadap kemampuan fagositosis makrofag.

Jenis penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* menggunakan 15 ekor mencit strain Balb/c yang dilakukan *random sampling* dan dibagi menjadi 3 kelompok, terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok perlakuan : 0,5 gram jus tempe dosis 1 kali sehari selama 12 hari, kelompok kontrol positif : 1 mg *imboost tablet* dalam 1 cc air 1 kali sehari selama 12 hari, kelompok kontrol negatif : pemberian 1 cc 1 kali sehari selama 12 hari. Pemeriksaan kemampuan fagosit makrofag dilakukan pada hari ke-13 dengan *latex beads method* dan data yang diperoleh di uji dengan Uji *Kruskal Wallis* dilanjutkan dengan *t-test independent*.

Hasil penelitian didapatkan perbedaan kemampuan fagosit yang signifikan antara kelompok perlakuan yaitu $760,6 \pm 109,898$ dengan kelompok kontrol positif yaitu $244,2 \pm 70,159$ ($p = 0,016$), antara kelompok perlakuan yaitu $760,6 \pm 109,898$ dengan kelompok kontrol negatif yaitu $9,6 \pm 2,839$ ($p = 0,008$), dan antara kelompok kontrol positif yaitu $244,2 \pm 70,159$ dengan kelompok kontrol negatif $9,6 \pm 2,839$ ($p = 0,008$).

Kesimpulan terdapat perbedaan rerata kemampuan fagosit antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Kata kunci : makrofag, kemampuan fagositosis, tempe

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Fagosit adalah salah satu pertahanan seluler yang berperan dalam sistem imun non-spesifik, dimana sel mononuklear yaitu monosit dan makrofag, merupakan sel utama yang berfungsi sebagai pertahanan terdepan dalam menghadapi serangan mikroorganisme (Karnen, 2001). Peningkatan aktivitas makrofag dapat dipengaruhi beberapa faktor, salah satunya adalah isoflavon. Isoflavon mampu meningkatkan kadar $CD4^+$ dan $CD8^+$ yang dapat mengaktivasi makrofag sehingga mencegah timbulnya semua penyakit (Russell, 2004). Angka kecukupan isoflavon adalah sebesar 50-100 mg per hari. Isoflavon dengan jumlah tertinggi dapat ditemukan pada produk-produk olahan kedelai seperti tempe. Indonesia sebagai produsen tempe terbesar, ternyata hanya mampu memenuhi kebutuhan isoflavon 20-30 mg per hari (Nagata, 2001)

Tempe yang dikonsumsi dalam jumlah adekuat dapat meningkatkan kadar isoflavon tubuh. Tempe mengandung rantai asam amino penyokong imun tubuh yang disebut sebagai peptid. Selain itu, isoflavon bersifat mengurangi radikal bebas sehingga dapat menurunkan molekul perusak sel tubuh dan penuaan dini. Oleh karena itu, bangsa Jepang sebagai negara dengan konsumsi isoflavon terbanyak di dunia yang mencapai 200 mg perharinya dapat hidup lebih panjang dan sehat dari rata-rata orang. Jadi

meskipun isoflavon merupakan mikronutrien dan tidak wajib terpenuhi, namun keberadaanya memberikan manfaat yang lebih (Russell, 2004). Obat imunomodulator juga menjadi alternatif untuk meningkatkan fagosit makrofag dimana obat imunomodulator yang mengandung *echinacea* yang paling banyak digunakan. *Echinacea* bekerja dengan meningkatkan fagositosis makrofag, meningkatkan produksi mediator kimia yaitu interferon, interleukin dan TNF alfa (Sullivan, 2008). Namun, *Echinacea* juga tidak boleh digunakan dalam jangka panjang yaitu tidak boleh lebih dari delapan minggu karena dapat menyebabkan sistem imun tubuh menjadi menurun. *Echinacea* hanya mempunyai efektivitas pada pemberian 1-2 minggu. (Bauer, dkk., 2005).

Molteni (2003) menyebutkan bahwa jumlah tertinggi isoflavon terkandung dalam kedelai. Isoflavon tersebut dapat meningkatkan aktivitas limfosit dan sel timus (Winarsi, 2005). Isoflavon mengandung geinstein yang mampu menurunkan proliferasi kanker prostat dan kanker payudara hingga 74% (Hempstock, 1999). Selain mengandung Isoflavon, kedelai memiliki banyak kelebihan salah satunya karena kedelai memiliki sifat estrogenik yang mampu mencegah osteoporosis dan memiliki *PUFA* yang mampu menurunkan kadar LDL (Sarwono, 2007)

Tempe yang berpengaruh terhadap aktivitas imun masih kurang mendapat perhatian dan melihat sedikitnya jumlah penelitian yang menghubungkan keduanya, maka perlu dilakukan penelitian untuk

mengetahui hubungan tempe terhadap fagositosis makrofag. Penelitian mengambil tempat di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dengan pertimbangan bahwa laboratorium ini memiliki fasilitas yang memadai untuk melakukan pengukuran kemampuan fagositosis sehingga lebih representatif.

1. Perumusan Masalah

“Bagaimanakah pengaruh tempe terhadap kemampuan fagositosis makrofag pada mencit jantan strain Balb/c ?”

2. Tujuan Penelitian

3.1 Tujuan umum

Untuk mengetahui pengaruh tempe terhadap fagositosis pada mencit jantan strain Balb/c.

3.2 Tujuan khusus

3.2.1 Melihat perbedaan kemampuan fagositosis makrofag pada mencit yang mendapat perlakuan – perlakuan berbeda :

3.2.1.1 Mengetahui fagositosis makrofag pada mencit jantan strain Balb/c kelompok perlakuan yang diberi 0,5 gram tempe yang dijus kemudian diberikan melalui sonde serta diberikan 20 gram pakan standar selama 12 hari.

3.2.1.2 Mengetahui fagositosis makrofag pada mencit jantan strain (Balb/c) kelompok kontrol positif yang diberi 1 miligram imboost tablet yang diencerkan kemudian diberikan melalui sonde serta 20 gram pakan standar selama 12 hari.

3.2.1.3 Mengetahui fagositosis makrofag pada mencit jantan strain (Balb/c) kelompok kontrol negatif yang diberikan aquades melalui sonde dan diberikan 20 gram pakan standar selama 12 hari.

3.2.2. Mengetahui perbedaan fagositosis makrofag antara mencit jantan strain (Balb/c) kelompok perlakuan, kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif.

3. Manfaat Penelitian

4.1. Manfaat pengembangan ilmu

4.1.1 Dapat memberikan tambahan informasi tentang pengaruh tempe terhadap kemampuan fagositosis makrofag.

4.1.2. Diharapkan dapat digunakan untuk kajian bagi penelitian selanjutnya mengenai hubungan tempe dengan fagosit makrofag.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Daya Fagositosis Makrofag

2.1.1. Definisi Makrofag dan Fagositosis

Makrofag berasal dari bahasa Yunani, *makros* yang berarti besar dan *phagein* yang berarti makan. Makrofag adalah sel yang berasal dari monosit yang menjadi dewasa dan terdiferensiasi dan kemudian bermigrasi ke jaringan (Janeway, 2001).

Makrofag berperan dalam fagositosis yaitu proses seluler untuk memakan partikel padat dengan membran sel dan membentuk fagosom internal. Fagositosis adalah bentuk spesifik dari endositosis yang melibatkan internalisasi vesikular terhadap partikel padat. Makrofag melakukan fagositosis selular dan patogen baik sebagai sel tak bergerak atau bergerak. Makrofag mampu bermigrasi hingga keluar sistem vaskuler dengan melintasi membran sel dari pembuluh kapiler dan memasuki area antara sel yang sedang diincar oleh pathogen (Ishimoto, 2008).

Makrofag adalah fagosit yang paling efisien untuk mencerna sejumlah besar bakteri atau sel lainnya. Pengikatan molekul bakteri ke reseptor permukaan makrofag memicu proses penelanan dan penghancuran bakteri. Patogen juga menstimulasi makrofag untuk menghasilkan kemokin, yang memanggil sel fagosit lain di sekitar wilayah terinfeksi (Ishimoto, 2008).

2.1.2. Sintesis Makrofag

Makrofag diproduksi di sumsum tulang dari sel induk myeloid melalui stadium *promonosit*. Sel yang belum berkembang sempurna ini kemudian masuk ke dalam aliran darah sebagai *monosit* dan apabila sel itu meninggalkan sirkulasi dan sampai di jaringan mengalami berbagai perubahan tambahan dan menjadi sel matang kemudian menetap di jaringan sebagai *makrofag* (Kresno, 2007).

Sel-sel ini terdapat di paru sebagai makrofag alveolar, di hati sebagai sel Kupfer, melapisi sinusoid limpa dan kelenjar limfe, sebagai sel mesangial dalam glomerulus, sel microglia di otak dan sel osteoklast dalam tulang. Beberapa diantaranya berdeferensiasi menjadi sel lain misalnya sel dendritik. Masa hidup makrofag dapat mencapai beberapa bulan bahkan tahun, jadi umurnya lebih panjang dibandingkan sel polimorfonuklear (PMN) yang hanya hidup selama 2-3 hari (Kresno, 2007).

2.1.3. Proses fagositosis

Makrofag memfagosit partikel asing seperti mikroorganisme, makromolekul termasuk antigen bahkan sel atau jaringan sendiri yang mengalami kerusakan atau mati, misalnya eritrosit yang sudah tidak *viable*. Pengenalan makrofag terhadap substansi asing dimungkinkan oleh adanya reseptor fosfolipid sedangkan fungsi sebagai sel efektor yaitu menghancurkan mikroorganisme serta sel ganas dan benda asing dimungkinkan karena adanya lisosom dalam sitoplasma yang

mengandung hidrolase maupun peroksidase yang merupakan enzim perusak. Selain itu makrofag mempunyai reseptor terhadap fragmen Fc IgG1, IgG3, IgE dan reseptor terhadap komplemen. Adanya reseptor tersebut meningkatkan kemampuan sel untuk menghancurkan benda asing yang dilapisi antibodi dan komplemen (Kresno, 2007).

Kemudian makrofag menyajikan antigen yang telah diproses dan diikat pada MHC II kepada sel Th. Sel Th menghasilkan zat kemotaktik dan menarik lebih banyak makrofag. Sel T menghasilkan *Macrophage Activating Factor (MAF)*, IFN γ dan IL 3 yang merangsang reaksi peradangan (Kresno, 2007).

2.1.4. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Daya Fagositosis Makrofag

Menurut Kumar (2007) hal – hal yang menyebabkan aktivasi makrofag adalah :

2.1.4.1. Aktivasi non imun

a. Adanya endotoksin

senyawa kompleks yang terdapat pada dinding sel bakteri gram negatif. Senyawa tersebut dapat menyebabkan berbagai penyakit, misalnya demam, kolera, tetanus, *lethal shock*, tekanan darah rendah, menurunnya sel darah putih, dan lain sebagainya. Di samping mempunyai efek yang merugikan bagi manusia, endotoksin juga mempunyai efek yang berguna, yaitu untuk meningkatkan daya tahan tubuh terhadap infeksi

(menghasilkan antibodi) yang disebabkan oleh bakteri atau virus dan membunuh sel kanker (Zukesti, 2003).

b. Fibronektin.

Fibronektin merupakan protein ekstraseluler yang membantu sel melekat dengan matriks dan merupakan glikoprotein. Fibronektin memiliki fungsi untuk berinteraksi dengan banyak zat ekstraseluler, seperti kolagen pada otot. Fibronektin berfungsi untuk pembentukan otot baru. Pembentukan otot baru diawali dengan pembuangan otot yang sudah rusak dalam tubuh. Otot yang rusak dibuang melalui mekanisme fagositosis. Makrofag akan mendorong tubuh membentuk sel-sel baru untuk menggantikan sel yang lama. Proses ini berlangsung selama 3-4 hari. Sel fagosit akan melepaskan enzim digestif, toksin, dan senyawa yang disebut *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berpengaruh kuat dalam mengurangi kekuatan lapisan sel otot (Schultz, 2005).

c. Mediator kimia.

Respon imun sel diperantarai oleh mediator kimia. Mediator kimia bersifat sebagai aktivasi sel imun. Mediator kimia yang berperan dalam respon imun adalah komplemen, sitokin dan zat-zat lain. Komplemen terdiri dari 20 jenis protein yang berperan sebagai mediator antigen dan antibodi. Komplemen dinyatakan dengan simbol C (mulai dari C1-C9). Sitokin adalah substansi

serupa hormon yang dikeluarkan oleh limfosit T dan B untuk mengatur reaksi inflamasi. Sitokin dalam respon imun dikenal dengan istilah interleukin yang diberi simbol IL (mulai IL1-IL15) memiliki fungsi yang berbeda seperti IL-1 dan IL-12 yang mempengaruhi kerja makrofag. Zat lain yang berperan sebagai mediator adalah hormon dan prostaglandin yang berfungsi sebagai penghambat fagositosis. Ketersediaan mediator berpengaruh pada pengaktifan sel imun (Kresno, 2007).

2.1.4.2. Aktivasi imun

Aktivasi imun terjadi jika sel T teraktivasi dan menghasilkan Inter Feron (IFN)- γ . Disebut aktivasi imun jika terdapat partikel yang mampu mengaktifasi sel imun tanpa mediator kimia atau aktivasi non imun telah berhasil mengaktifkan sel imun. Seperti pada proses respon alergi, terjadi aktivasi pada sel B untuk menghasilkan IgE merangsang reaksi hipersensitivitas (Kresno, 2007).

2.1.5. Cara penghitungan daya fagositosis

Pada umumnya terdapat tiga macam pemeriksaan daya fagositosis yaitu mikroskopis, fagositosis dari partikel berlabel dan mikrobiologi.

Dalam pemeriksaan mikroskopis, sampel diambil secara acak dan jumlah sel yang memfagosit dihitung langsung lewat mikroskop.

Namun karena mikroskop cahaya terbatas daya resolusinya maka pada pemeriksaan ini dibutuhkan mikroskop elektron.

Pemeriksaan fagositosis dari partikel berlabel dapat berupa penggunaan *latex beads* sebagai partikel yang akan difagosit. Dari sebuah sampel kecil dapat dianalisa dan dibedakan antara bakteri ekstraseluler yang berfluoresensi dan jumlah makrofag. Kesulitan terjadi saat perhitungan dengan mikroskop cahaya. Namun walaupun demikian penghitungan ini merupakan metode yang paling sederhana dan mudah dilaksanakan.

Pemeriksaan mikrobiologi dilakukan dengan pengukuran viabilitas bakteri yang dilihat dari kemampuannya untuk membentuk koloni setelah dikultur. Metode ini murah dan sederhana namun kerugiannya terjadi kontaminasi dari lingkungan dan pengulangan proses dilusi yang melelahkan (Hampton, 1999).

2.2. Tempe

2.2.1. Definisi

Tempe adalah makanan yang dibuat dari fermentasi terhadap biji kedelai menggunakan bakteri *Rhizopus*. *Rhizopus* yang tumbuh pada kedelai dan menghidrolisis senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana yang mudah dicerna oleh manusia. Secara umum, tempe berwarna putih karena pertumbuhan miselia *Rhizopus* yang merekatkan biji-biji kedelai sehingga terbentuk tekstur yang memadat. Degradasi komponen-komponen kedelai

pada fermentasi membuat tempe memiliki rasa dan aroma khas. Berbeda dengan tahu, tempe terasa agak masam (Shurtleff, 2001).

2.2.2. Kandungan Tempe

Berbagai kandungan dalam tempe mempunyai nilai obat, seperti antibiotik untuk penyembuhan infeksi, antioksidan pencegah penyakit degeneratif dan beberapa kandungan yang dapat meningkatkan imun seperti isoflavon dan seng (Astawan, 2003).

Tabel 2.1. Kandungan Zat Gizi Tempe

Zat gizi	satuan	Komposisi zat gizi 100 gram BDD
Energi	Kal	201
Protein	Gram	20,8
lemak	Gram	8,8
Hidrat arang	Gram	13,5
Serat	Gram	1,4
abu	Gram	1,6
Kalsium	Mg	155
Fosfor	Mg	326
Besi	Mg	4
Karotin	Mg	34
Vitamin B1	Mg	0,19
Vitamin B2	Mg	0,15
Zink	Mg	8,05
Zat besi	Mg	9,39
tembaga	Mg	2,78
Vitamin C	Mg	0
Air	Gram	55,3
BDD	%	100

BDD : Berat yang dapat dimakan

(Depkes, 2001)

Tempe juga mengandung antioksidan yang penting yaitu isoflavon. Isoflavon terdiri dari kelas senyawa organik alami,

yang berkaitan dengan isoflavonoids. Mereka bisa disebut antioksidan karena kemampuan mereka untuk menjebak oksigen. Isoflavon dihasilkan hampir secara eksklusif oleh *Fabaceae Leguminosae* atau kacang-kacangan (Heber.dkk, 2008).

Mayoritas phytoestrogen yang ditemukan di dalam makanan dapat dikategorikan ke dalam dua kelas utama yaitu isoflavon dan lignan. Isoflavon adalah senyawa yang dibentuk dari phytoestrogen. Dua dari isoflavon utama yang ditemukan pada makanan adalah genistein dan daidzein (Ranich, 2001).

Genistein dan daidzein adalah senyawa yang dibentuk dari prekursor, biochanin A dan formononetin. Pada tumbuhan, isoflavon diikat dengan glikosida, ikatan ini membuat isoflavon menjadi tidak aktif, namun ketika residu gula tersebut dihapuskan maka senyawa ini mampu aktif. Proses yang dapat memutus ikatan tersebut seperti proses fermentasi dan pemanggangan (Ranich, 2001).

Di dalam tubuh senyawa ini menjalani fermentasi oleh mikroflora usus. Dalam mikroflora kolon, daidzein akan dimetabolisme untuk diubah menjadi equol atau demethylangolesi dan genistein akan dimetabolisme untuk menjadi p fenol-etil, senyawa yang tidak dapat difermentasikan akan diserap tanpa proses lanjut untuk kemudian dikeluarkan melalui urin (Ranich, 2001).

Tempe merupakan produk olahan dari kedelai yang paling sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Setiap tahunnya masyarakat Indonesia mengkonsumsi tempe sebanyak 6,45 kg.

Makanan yang terbuat dari kedelai mempunyai jumlah isoflavon yang bervariasi, tergantung bagaimana mereka diproses. Makanan dari kedelai seperti tahu, susu kedelai, tepung kedelai dan kedelai utuh mempunyai kandungan isoflavon berkisar antara 130 – 380 mg/100 gram. Kecap dan minyak kedelai tidak mengandung isoflavon. Tempe mentahan mengandung 3,1 mg isoflavon per gram protein (Koswara, 2006).

Tabel 2.2. Macam Kadar Isoflavon pada berbagai produk kedelai

Produk kedelai	Isoflavone	geinstein	daidzein
panggang	2661	1426	941
isolasi	987	640	191
tempe	865	422	405
tahu	532	245	238
minuman	28	21	7

Ukuran dalam μg (Wang, 1994)

2.3. Obat imunomodulator

Imboost adalah obat imunomodulator yang mengandung *echinacea* yang paling banyak digunakan. Imboost tablet mengandung bahan alami

berupa ekstrak tumbuhan. Tiap tablet Imboost berisi Echinacea 250 mg dan Zn picolinate 10 mg dan dosis efektif diminum 1 x sehari 1 tablet. Echinacea bekerja dengan meningkatkan fagositosis makrofag, meningkatkan produksi mediator kimia yaitu interferon, interleukin dan TNF alfa. Zinc dapat meningkatkan imun melalui jalur kaskade. Proses ini diawali dengan mobilisasi dan skuestrasi dari jaringan yang kaya *zinc-metallothionein* kemudian zinc mempercepat upregulasi sintesis protein sebagai bahan untuk imun spesifik, serta aktivasi dari makrofag, limfosit, dan sel NK (Sullivan,2008)

2.4. Pengaruh Tempe Terhadap Kemampuan Fagositosis Makrofag

Isoflavon dapat meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag. Pengaruh tersebut disebabkan adanya tiga jalur aktivasi (Kresno, 2007). Pertama, isoflavon akan meningkatkan kadar IL-4. IL-4 yang teraktivasi akan mengaktifkan sel NK (*Natural Killer*). Kemudian sel NK akan menghasilkan IFN (*Interferon*) γ yang memanggil makrofag.

Kedua, isoflavon mampu mengaktifkan IL-1 yang merangsang Th1 untuk menghasilkan IL-2 dan IFN γ . Adanya IL-2 dan IFN γ menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah makrofag. Ketiga, Isoflavon dapat mengaktifasi *TNF (Tumor Nekrosis Faktor)* sehingga makrofag teraktifasi dan kemampuan fagositnya meningkat (Kresno, 2007).

Zink adalah salah satu mineral yang mempunyai efek positif terhadap system imun. Zink berperan untuk maturasi dan diferensiasi sel T, inhibitor apoptosis, mengaktifkan timulin, dan menstimulasi produksi

IFN- γ oleh sel NK. Dengan terstimulirnya limfosit T, memungkinkan sel T berproliferasi dan berdiferensiasi yang akhirnya dapat memacu aktivitas enzim selulernya (Rink & Kirchner 2000). Studi invitro membuktikan bahwa zink dapat memacu produksi IL-1 β , IL-6, dan TNF- α oleh monosit sehingga dapat meningkatkan aktivitasnya (Winarsi, dkk., 2004)

2.5. Hewan Coba

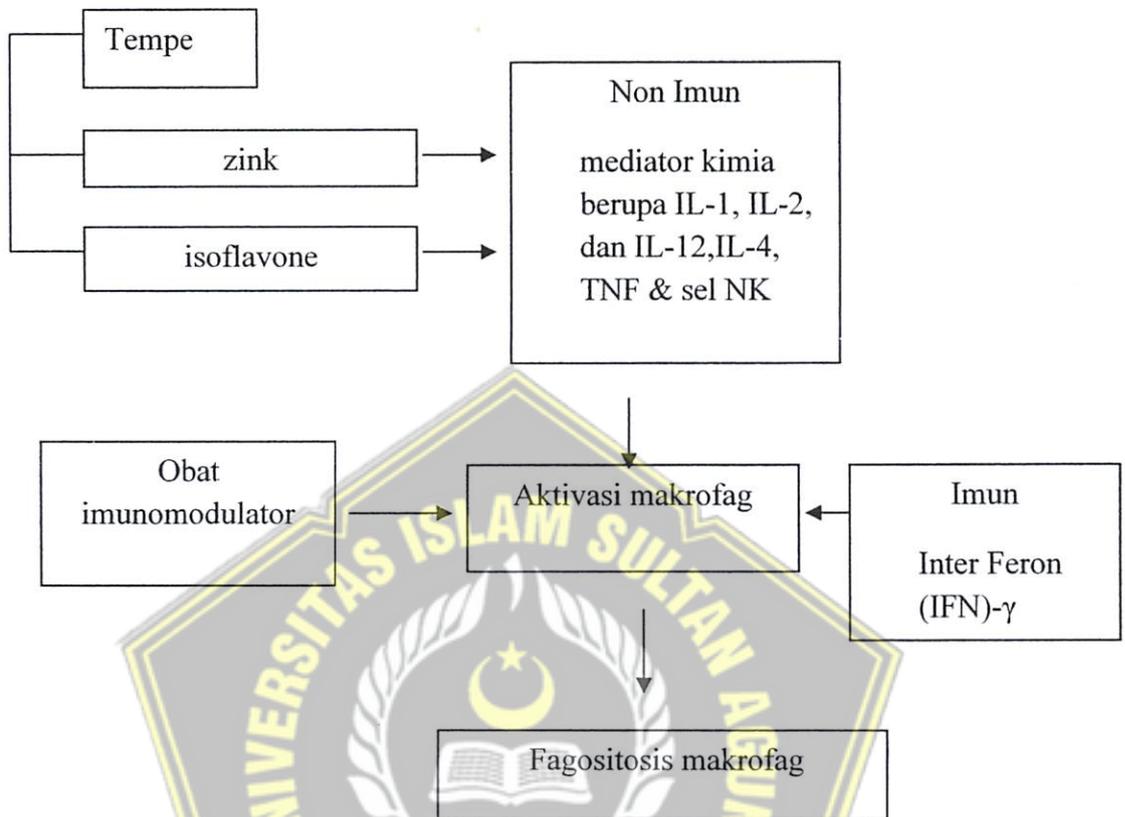
2.5.1. Mencit

Mencit termasuk dalam genus *Mus*, subfamily *Murinae*, family *Muridae*, orde *Rodentia*. Mencit merupakan hewan coba yang sering digunakan sebagai hewan model pertama untuk uji toksisitas atau untuk menentukan manfaat suatu bahan atau obat. Mencit memiliki banyak strain diantaranya *swiss*, *bulb/c* dan *DDY* (Potter, 1995). *Balb/c* jantan banyak digunakan dalam penelitian yang berhubungan dengan imunologi dan kanker karena memiliki imun yang lebih stabil. Mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan strain *balb/c* umur 2-3 bulan karena pada umur tersebut mencit sudah dewasa sistem hormon dan sistem imun sudah stabil. Dipilih mencit jantan karena sistem imun pada mencit jantan tidak dipengaruhi oleh hormon reproduksi. Hal ini disebabkan karena kadar hormon estrogen pada mencit jantan relatif rendah dibanding mencit betina dan adanya stres akut akibat sonde dapat menyebabkan penurunan kadar estrogen pada mencit betina yang berefek imunostimulasi

dan dapat mengaburkan efek tempe yang bersifat imunostimulator (Aguas, 1999)

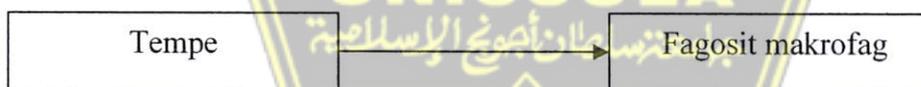


2.6. Kerangka Teori



2.7.

Kerangka Konsep



2.6. Hipotesis

Ada pengaruh tempe terhadap fagositosis makrofag pada mencit strain BalB/C.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian *eksperimental* dengan menggunakan rancangan penelitian “ *post test only control group design*”.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel terikat : kemampuan fagositosis makrofag

3.2.1.2. Variabel bebas : tempe

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Fagositosis makrofag adalah sel makrofag yang diambil dari sel peritoneal mencit yang telah diberikan perlakuan, pada hari ke 13 diamati sel makrofag yang memfagosit partikel *latex* dikalikan dengan jumlah rata-rata pertikel *latex* pada sel makrofag positif, diamati dengan mikroskop cahaya.

Skala data: rasio

3.2.2.2. Tempe yang digunakan adalah tempe yang dibeli di pasar tlogosari, diambil 0,5 gram dan dijus kemudian diberikan melalui sonde satu kali sehari selama 12 hari

Skala : nominal

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah semua mencit jantan strain Balb/c yang ada di Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada Yogyakarta pada saat penelitian dilakukan.

3.3.2. Sampel penelitian

Total jumlah sampel adalah 15 ekor mencit jantan strain Balb/c yang memenuhi kriteria inklusi

3.3.2.1. Kriteria inklusi:

1. Umur 2-3 bulan.
2. Berat badan 30- 35 gram.
3. Tidak ada cacat tubuh.
4. Sehat minimal satu minggu sebelum dan pada waktu pengukuran. Dikatakan sehat bila mencit aktif bergerak, bulu mengkilat, dan nafsu makan baik.

3.3.2.2. Kriteria drop out :

1. Mencit yang mati selama penelitian
2. mencit yang sakit selama penelitian
3. mencit yang terluka selama penelitian

Sampel dibagi menjadi tiga kelompok secara random. Tiap kelompok minimal terdiri dari 5 ekor berdasarkan pada ketentuan WHO yang menyebutkan batas minimal hewan coba yang

digunakan dalam penelitian eksperimental adalah 5 ekor tiap kelompok perlakuan penelitian (WHO, 1993)

Pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan adalah 5 ekor pada kelompok perlakuan, 5 ekor pada kelompok kontrol positif, dan 5 ekor pada kelompok kontrol negatif.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

Instrumen dan bahan penelitian ini terdiri dari 3 bagian yaitu:

3.4.1. Untuk membuat jus tempe

3.4.1.1. Sarung tangan.

3.4.1.2. Tempe.

3.4.1.3. Blander khusus

3.4.2. Untuk isolasi makrofag mencit

3.4.2.1. Alat

3.4.2.1.1 Gunting dan pinset.

3.4.2.1.2 Semprit 10 ml steril dengan jarum ukuran 18 atau 20 gauge.

3.4.2.1.3 Tabung sentrifuse 50 ml steril.

3.4.2.1.4 Tabung berlapis silikon.

3.4.2.1.5 Hemagtometer.

3.4.2.1.6 Laminar flowhood.

3.4.2.1.7 Refrigerated sentrifuge.

3.4.2.2. Bahan

3.4.2.2.1 Sodium pentobarbital 50 mg/ml.

- 3.4.2.2.2 Alcohol 70%.
 - 3.4.2.2.3 Free Hare Balanced Salt Solution (CMF-HBSS) mengandung Ca^{2+} dan Mg^{2+} (GIBCO)
 - 3.4.2.2.4 Asam asetat 3 % dan cristal violet 1 mg/100 ml.
 - 3.4.2.2.5 Roswell Park Memorial Intitude (RPMI) – 1640 (GIBCO).
 - 3.4.2.2.6 Fetal Bovine Serum (FBS)
 - 3.4.2.2.7 Glutamine (GIBCO)
 - 3.4.2.2.8 Penicilin – Sterptomycin (GIBCO).
- 3.4.3. Untuk penghitungan daya fagositosis makrofag dengan *latex beads*
- 3.4.3.1 Makrofag.
 - 3.4.3.2 Latex beads 3 μm (Sigma.Cat.L30).
 - 3.4.3.3 PBS.
 - 3.4.3.4 RPMI
 - 3.4.3.5 .Mikroplate 24 ml.
 - 3.4.3.6 Coverslip.
 - 3.4.3.7 Object glass.
 - 3.4.3.8 Incubator CO_2
 - 3.4.3.9 .mikroskop cahaya dan kamera foto.
- 3.4.4. Untuk kelompok kontrol yang diberi Imboost tablet.
- 3.4.4.1. Imboost tablet 1 miligram.
 - 3.4.4.2. Timbangan
 - 3.4.4.3. .Sonde.

3.4.4.4. Aquadest.

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Dosis pemberian tempe

1 gram protein tempe didapatkan sekitar 3 mg isoflavon, sedangkan kebutuhan isoflavone yang dibutuhkan manusia dalam sehari adalah 100 mg. sehingga dalam satu hari manusia harus mengkonsumsi 135 gram tempe. Penentuan dosis berdasarkan dosis untuk manusia dengan berat badan 70 kg dikonversikan kepada mencit dengan berat badan 20 g menggunakan tabel konversi Laurence-Bacharach dengan faktor konversi 0,0026. Jika berat badan mencit yang digunakan adalah 30-35 g maka konversinya menjadi 0,004 Jika dikonversikan dalam mencit maka

$$\begin{aligned} \text{Dosis tempe untuk mencit} &: \text{dosis manusia} \times \text{konversi} \\ &: 135 \text{ gram} \times 0,004 \\ &: 0,5 \text{ gram} \end{aligned}$$

3.5.2. Dosis pemberian Imboost tablet

Mencit yang dipilih sebagai kontrol diberikan Imboost tablet dengan dosis konversi menggunakan sonde. Penentuan dosis berdasarkan dosis untuk manusia dengan berat badan 70 kg dikonversikan kepada mencit dengan berat badan 20 g menggunakan tabel konversi Laurence-Bacharach dengan faktor konversi 0,0026. Jika berat badan mencit yang digunakan adalah 30-35 g maka konversinya menjadi 0,004

$$\begin{aligned}\text{Dosis Imboost tablet} &= \text{dosis manusia} \times \text{nilai konversi} \\ &= 250 \text{ mg} \times 0,004 \\ &= 1 \text{ mg}\end{aligned}$$

3.5.3. Perlakuan sampel.

3.5.3.1. Masing-masing mencit dibagi menjadi 3 kelompok. Dalam 1 kelompok terdiri dari 5 mencit yang di beri perlakuan berbeda.

3.5.3.1.1. Kelompok perlakuan mendapat perlakuan 0,5 gram jus tempe. Diberikan melalui sonde dengan dosis 1 kali sehari selama 12 hari. Serta 20 gram pakan standar.

3.5.3.1.2. Kelompok kontrol positif mendapat perlakuan 1 mg imboost tablet yang telah diencerkan kemudian diberikan dengan menggunakan sonde dengan dosis 1 kali sehari selama 12 hari. Serta 20 gram pakan standar.

3.5.3.1.3. Kelompok kontrol negatif mendapat perlakuan aquadest dengan menggunakan sonde selama 12 hari serta diberikan pakan standar 20 gram.

3.5.3.2. Dilakukan pengamatan selama 12 hari.

3.5.4. Isolasi makrofag

- 3.5.4.1. Mencit diterminasi dengan dislokasi cervical atau inhalasi dengan sodium Phenobarbital, dibaringkan terlentang dan seluruh permukaan ventral disiram alkohol 70%.
- 3.5.4.2. Irisan kecil dibuat pada kulit dengan gunting pada medial abdomen. Robek kulit dengan 2 pinset ke arah kepala dan ekor mencit sehingga kulit terkelupas dan tampak peritoneum. Basahi peritoneum dengan etanol 70% untuk menyingkirkan bulu yang rontok.
- 3.5.4.3. Peritoneal diinjeksi dengan 2-3 ml CMF-HBSS
- 3.5.4.4. Dengan ujung jarum menghadap ke atas atau ventral, peritoneum dipijat pelan-pelan. Injeksikan 7-8 ml CMF-HBSS. Sedot kembali cairan dalam rongga peritoneum sampai habis bila masih ada sisa cairan diisap dengan pipet Pasteur steril. Cairan dimasukkan dalam tabung berlapis silikon.
- 3.5.4.5. Cairan disentrifus 800 kali pada suhu 20⁰ C selama 5 menit. Bila cairan terkontaminasi darah cuci sel tersebut 2 kali dengan CMF-HBSS.
- 3.5.4.6. Makrofag dipurifikasi dengan menempelkan sel peritoneal pada permukaan plastik selama 2-4 jam suhu 37⁰ C lalu tuang CMF-HBSS pelan-pelan untuk menghindari sedimen pellet sel adheren ikut tertuang. Sel yang digunakan adalah sel adheren.

3.5.4.7. Menambahkan medium komplet RPMI 1640 mengandung Penisilin 50 unit/ml, Sterptomisin 50mg/ml, Glutaminis 100ml dan 10 RBS.

3.5.4.8. Menghitung sel dengan hemacitometer setelah dilarutkan dalam 3% asam asetat untuk melisiskan sel darah merah.

3.5.4.9. Kultur dalam sel medium komplet dengan kepadatan 5×10^5 sel/ml selama 48 jam dalam CO₂ inhibitor suhu 37⁰ C.

3.5.5. Uji daya fagositosis makrofag dengan *lateks beads method*

3.5.5.1. Suspensi fagosit yang telah dihitung dikultur pada mikroplate 24 sumuran yang telah diberi coverslip bulat, setiap sumuran 200ml (5×10^5 sel), inkubasi dalam inkubator CO₂ dengan suhu 37⁰ C selama 30 menit.

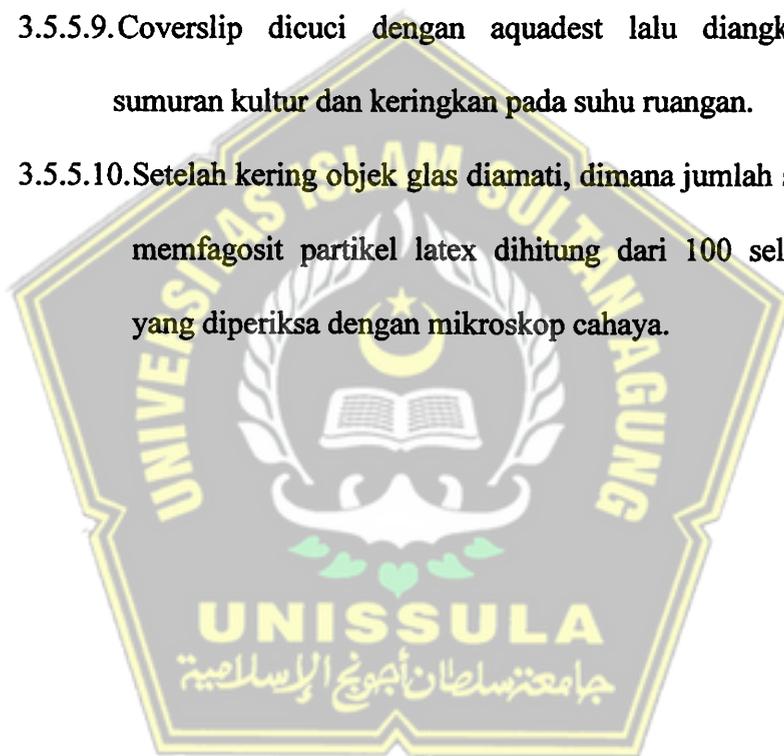
3.5.5.2. Menambahkan medium komplet yang berisikan RPMI dan larutan PBS sebanyak 1 ml/sumuran lalu diinkubasi 2 jam.

3.5.5.3. Sel kemudian dicuci dengan larutan RPMI sebanyak 2 kali, kemudian ditambahkan medium komplet 1 ml/sumuran, diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam sel dicuci dengan larutan RPMI kembali sebanyak 2 kali.

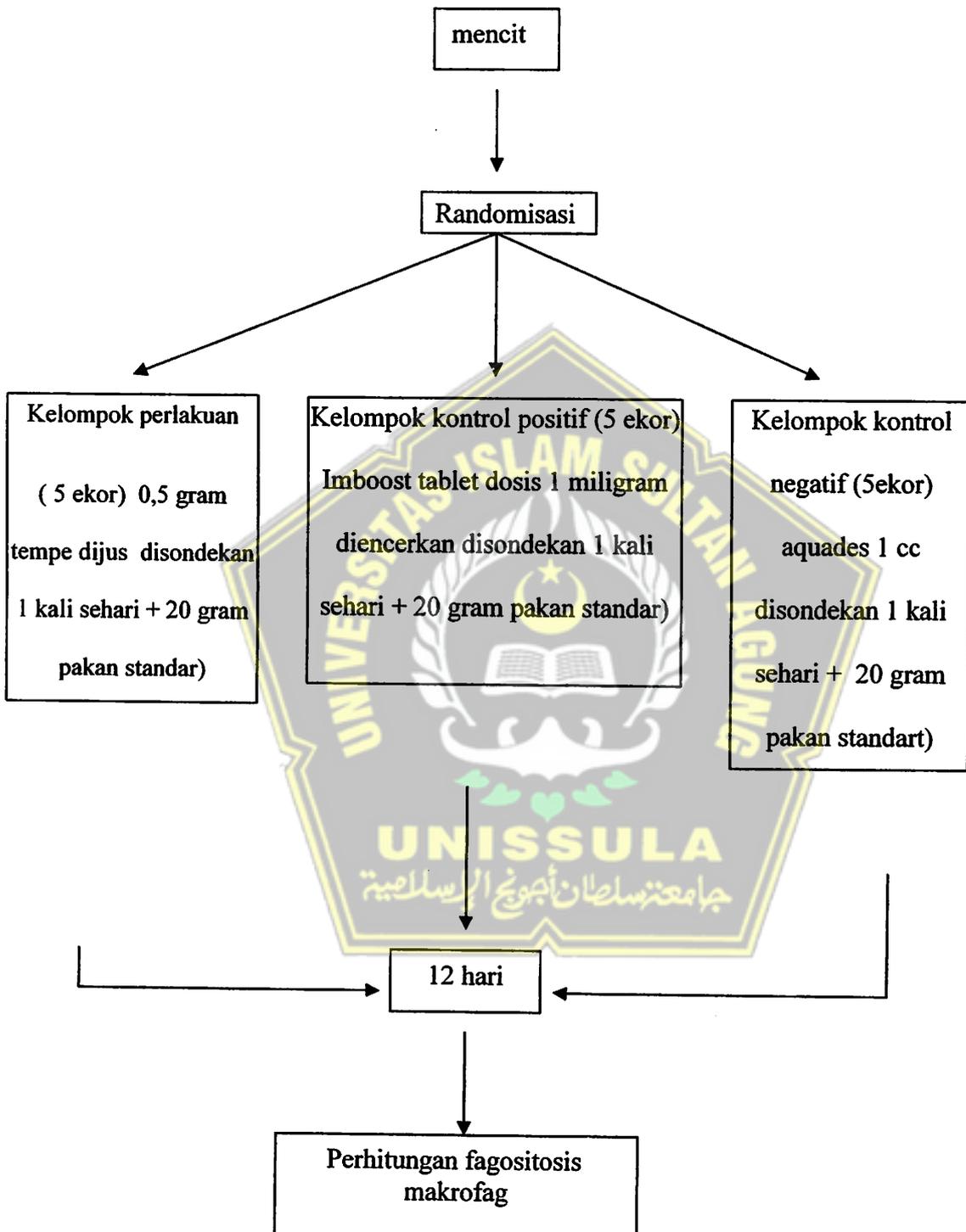
3.5.5.4. *Latex beads* disuspensikan sehingga mendapat konsentrasi $2,5 \times 10^7$ /ml.

3.5.5.5. Suspensi *latex* ditambah 200 µl/sumuran, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 60 menit pada suhu 37⁰ C.

- 3.5.5.6. Setelah diinkubasi dicuci dengan larutan PBS sebanyak 3 kali untuk menghilangkan partikel yang tidak difagosit.
- 3.5.5.7. Pada suhu ruangan dilakukan pengeringan lalu difiksasi dengan methanol absolute.
- 3.5.5.8. Setelah kering coverslip dipulas dengan Giemsa 20% selama 30 menit.
- 3.5.5.9. Coverslip dicuci dengan aquadest lalu diangkat dari sumuran kultur dan keringkan pada suhu ruangan.
- 3.5.5.10. Setelah kering objek glas diamati, dimana jumlah sel yang memfagosit partikel latex dihitung dari 100 sel fagosit yang diperiksa dengan mikroskop cahaya.



3.5. Alur Penelitian



3.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat : Lembaga Penelitian dan Pengembangan Terpadu Universitas
Gajah Mada Yogyakarta.

Waktu : dilaksanakan pada Januari – Februari 2011

3.7. Analisis Hasil

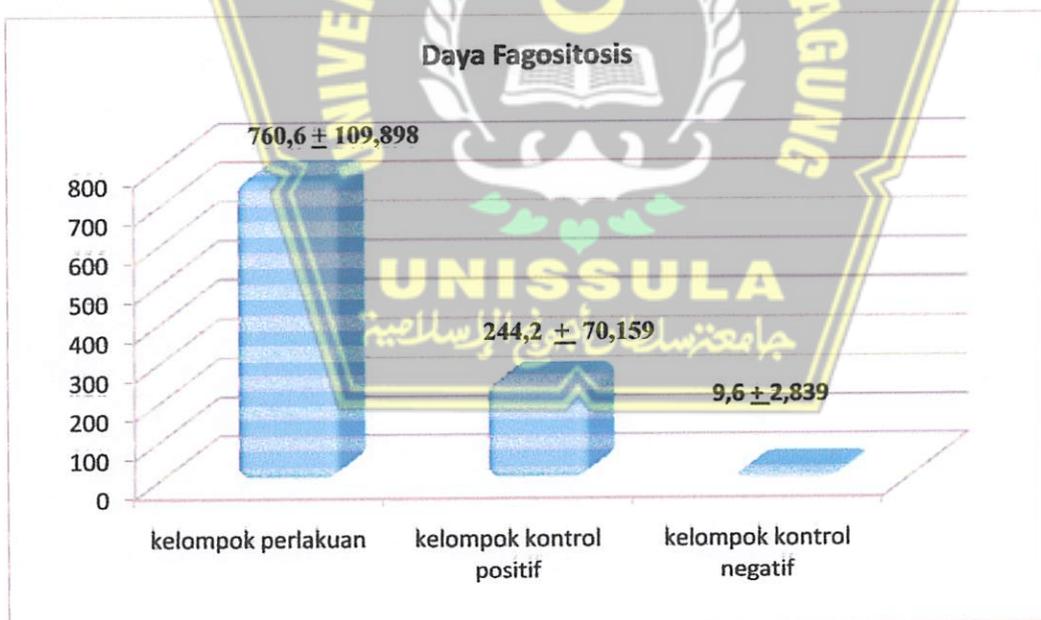
Data dari hasil pengukuran daya fagositosis dan pemberian tempe dimasukkan dalam tabel kemudian dilakukan analisis data. Uji normalitas data dengan uji *Saphiro-Wilk* menunjukkan sebaran data normal. Uji homogenitas dengan *Levene Test* menunjukkan data tidak homogen. Data yang berdistribusi normal dan tidak homogen di analisa dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Untuk mengetahui perbedaan dua kelompok, data diuji dengan *t test independent*.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Penelitian

Menurut hasil perhitungan didapatkan rerata kemampuan fagositosis terendah pada kelompok kontrol negatif yaitu $9,6 \pm 2,839$. Rerata kemampuan fagositosis tertinggi pada kelompok perlakuan yaitu $760,6 \pm 109,898$. Rerata hasil pengukuran kemampuan fagositosis pada masing – masing kelompok dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Diagram Rerata Hasil Pengukuran Kemampuan Fagositosis pada masing – masing kelompok perlakuan.

Uji normalitas rerata fagositosis makrofag pada berbagai kelompok diuji menggunakan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan sebaran data normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas rerata fagositosis makrofag pada berbagai kelompok diuji menggunakan uji *Levene* menunjukkan data tidak homogen ($p < 0,05$). Uji *Kruskal Wallis* digunakan untuk membedakan kemampuan fagositosis antar berbagai kelompok hasil dimana diperoleh $p = 0,002$ ($p < 0,05$) yang berarti paling tidak ada dua kelompok yang berbeda (lampiran 2).

Hasil *Uji t-test independent*, perbedaan fagositosis makrofag pada kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol positif didapatkan $p = 0,006$ ($p < 0,05$) yang berarti ada perbedaan bermakna pada dua kelompok tersebut. Terdapat perbedaan fagositosis makrofag antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol negatif dimana $p = 0,002$ ($p < 0,05$) Terdapat perbedaan fagositosis makrofag antara kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif dimana $p = 0,029$ ($p < 0,05$).(lampiran 2).

2. Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok perlakuan yang diberikan tempe 0,5 gram memiliki rerata kemampuan fagositosis lebih tinggi dari kelompok kontrol positif dan negatif. Hal ini membuktikan bahwa pengkonsumsian tempe 0,5 gram satu kali sehari selama 12 hari dapat meningkatkan fagositosis makrofag.

Tempe merupakan makanan hasil fermentasi biji kedelai yang memiliki kandungan gizi yang lebih mudah dicerna, diserap dan dimanfaatkan tubuh dibandingkan dengan yang ada dalam kedelai. Dibanding kedelai, terdapat beberapa

hal yang menguntungkan pada tempe, hal ini bisa dilihat secara kimiawi terdapat peningkatan kadar padatan terlarut, nitrogen terlarut, asam amino bebas, asam lemak bebas, nilai cerna, nilai efisiensi protein serta skor proteinnya (Astawan, 2003).

Konsumsi tempe untuk skala rumah tangga rumah tangga Indonesia saat ini mencapai 69,89 persen. Di Indonesia, 60 persen kedelai diolah jadi tempe, 40 persen jadi tahu, dan 10 persen olahan lainnya (Widianarko, 2000)

Tempe sebagai bahan pangan, banyak mengandung zat gizi seperti protein yang tinggi, lemak, karbohidrat, vitamin dan mineral serta beberapa senyawa aktif. Zink dan senyawa aktif seperti isoflavonoid, genistein, daidzein, fitosterol, saponin, asam fitat dan inhibitor protease merupakan beberapa zat didalam tempe yang mempunyai pengaruh terhadap meningkatnya fagositosis makrofag (Koswara, 2006).

Tempe dapat meningkatkan fagositosis makrofag dengan dua mekanisme, yaitu sebagai antioksidan dan imunomodulator. Antioksidan merupakan zat yang dapat melawan radikal bebas. Radikal bebas adalah oksidan yang sangat reaktif untuk menyerang komponen seluler (Lampe, 1999). Serangan radikal bebas pada komponen membran sel, dapat dilihat dengan menurunnya aktivitas enzim antioksidan (Zakaria, dkk., 2000). Antioksidan yang dikonsumsi dalam jumlah tertentu dapat menurunkan risiko penyakit kardiovaskuler, menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan dan meningkatkan sistem imun (Meydani 2000).

Ada dua kelompok antioksidan, yaitu antioksidan non enzimatis dan enzimatis. Isoflavon, merupakan salah satu komponen fitoestrogen yang berperan sebagai antioksidan non enzimatis. Dalam kedelai terdapat tiga jenis isoflavon yaitu daidzein,

glisitein, dan genistein. Pada tempe, di samping ketiga jenis isoflavon tersebut juga terdapat antioksidan faktor II (6,7,4-trihidroksi isoflavon) yang mempunyai sifat antioksidan paling kuat dibandingkan dengan isoflavon dalam kedelai. Antioksidan ini disintesis pada saat terjadinya proses fermentasi kedelai menjadi tempe oleh bakteri *Micrococcus Luteus* dan *Coreyne Bacterium* (Pawiroharsono, 2001).

Isoflavon merupakan zat antioksidan yang sangat dibutuhkan tubuh untuk menghentikan reaksi pembentukan radikal bebas yang dapat menyebabkan tumor, kanker, penuaan dan kematian sel. Molekul daidzein yang merupakan salah satu zat dalam isoflavon bekerja untuk meningkatkan aktivitas sel T dan makrofag (Miladiyah, 2004). Sel T yang teraktivasi akan melepaskan limfokin seperti *interferon* (IFN) yang mengaktifkan efek lisis sel NK, *limfotoksin* (LT) yang dapat langsung menghancurkan sel kanker. Molekul daidzein juga melakukan aktivasi bahan kemotaktik (CFM), Migration Inhibition Factor (MIF) dan Macrophage Activating Factor (MAF). Limfokin-limfokin tersebut akan mengarahkan dan mengaktifkan makrofag dan meningkatkan efek sitotaksik (Baratawidjaja, 2000). Hal ini sesuai dengan penelitian Zhang dkk (2008) yang memberikan 90 mg ekstrak isoflavon dari buah semanggi merah meningkatkan fagosit makrofag sebesar 55,56 % dan peningkatan timus indek sebesar 30,89 %.

Zink adalah salah satu mineral yang mempunyai efek positif terhadap system imun. Dimana zink berperan untuk maturasi dan diferensiasi sel T, inhibitor apoptosis, mengaktifkan timulin, dan menstimulasi produksi IFN- γ oleh sel NK. Dengan terstimulirnya limfosit T, memungkinkan sel T berproliferasi dan berdiferensiasi yang

akhirnya dapat memacu aktivitas enzim selulernya (Rink & Kirchner 2000). Studi invitro membuktikan bahwa zink dapat memacu produksi IL-1 β , IL-6, dan TNF- α oleh monosit sehingga dapat meningkatkan aktivitasnya (Winarsi, dkk., 2005).

Zink dan Isoflavon dalam tempe bersifat sinergis. Menurut Afanas'av, dkk. (1999) bahwa interaksi senyawa flavonoid dan ion Zink memiliki tambahan satu pusat *radical scavenging* sehingga efek antioksidannya makin kuat. Sinergisme isoflavon dan Zink memacu sel-sel timus berfungsi dengan baik, yang ditunjukkan oleh aktivitas hormonnya. Timulin merupakan hormon yang disekresikan oleh kelenjar timus. Hormon tersebut berfungsi sebagai pengendali sistem imun secara umum. Peran isoflavon pada aktivitas timulin diduga dengan cara melindungi sel-sel timus dari serangan oksidan, sehingga keutuhan sel akan terjaga, sementara Zink berfungsi dalam maturasi, diferensiasi dan aktivasi sel-sel tersebut (Rink & Kirchner 2000). Penelitian Winarsi (2005) menyebutkan bahwa suplementasi Zink dalam minuman berisoflavon mampu menginduksi sel-sel imunokompeten, seperti sel limfosit dan sel timus. Dengan terstimulirnya sel-sel imun spesifik tersebut, diduga minuman suplemen Zink juga mampu menginduksi sel-sel imun non spesifik.

Tempe dikonsumsi dalam berbagai macam produk olahan seperti penggorengan, perebusan, pemanggangan dan pengukusan. Penelitian Nurhidajah dkk (2007) membandingkan kandungan gizi antara tempe hasil perebusan, pengukusan, penggorengan dan pemanggangan masing-masing pada suhu dan waktu 100°C, 4 menit, 70°C, 8 menit, 180°C, 4 menit dan 190°C, 4 menit. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa perebusan, penggorengan dan pemanggangan tidak

berpengaruh terhadap warna. Kadar protein (bobot kering) tertinggi terdapat pada proses pengukusan sebesar 52,92 g% dan terendah pada penggorengan sebesar 36,27 g%. Daya cerna protein tempe yang diuji secara *in vitro* untuk kontrol, perebusan, pengukusan, penggorengan dan pemanggangan masing-masing 56,79; 50,29; 81,04; 48,63 dan 40,36 %. Pengolahan dengan suhu yang tinggi selain berpengaruh terhadap protein juga berpengaruh terhadap senyawa aktif seperti isoflavonoid, genistein, daidzein, fitosterol, saponin, asam fitat dan inhibitor protease. Senyawa aromatik ini diduga mengalami penurunan akibat pemanasan. Total asam amino tempe tertinggi pada tempe kedelai kontrol yaitu sebesar 997,58 mg/g protein, dan terendah pada penggorengan 509,61 mg/g protein.

Proses pengolahan yang baik untuk mempertahankan kualitas gizi tempe sebaiknya menggunakan pemanasan dengan suhu yang tidak terlalu tinggi, misalnya pengukusan dengan suhu 70°C (Suhairi, 2007). Pemanasan dan perubahan pH dapat menyebabkan perubahan sifat fisik protein seperti kelarutan, viskositas, berat molekul dan zat gizi lain seperti vitamin dan senyawa aktif. Perubahan-perubahan pada protein ini memberikan peranan sangat penting pada pengolahan pangan (Cahyadi, 2004).

Imboost adalah terapi penunjang yang digunakan untuk stimulasi sistem imun. Setiap tablet imboost mengandung *Echinacea Purpurea* 250 mg, *Black Elderberry* 400 mg, *Zinc Picolinate* 10 mg. *Echinacea sp* yang terkandung dalam Imboost merupakan imunomodulator sehingga dapat meningkatkan respon imunitas seluler. *Echinacea sp* dapat memacu makrofag untuk menghasilkan sitokin yang akan

membantu regulasi sistem imun. Kultur makrofag yang mendapat stimulasi *echinacea sp* menunjukkan efek antiviral dibandingkan dengan yang tidak distimulasi (Burger dkk., 1997) Sitokin yang dihasilkan makrofag darah perifer mencit yang mendapat *Echinacea purpurea* akan mengaktifasi sel T helper untuk berproliferasi. Dilaporkan juga bahwa aktifasi makrofag yang berhubungan dengan aktifasi limfosit T akan meningkatkan produksi IFN- γ (Mishima dkk., 2004).

Kemampuan Echinacea untuk meningkatkan sistem imun merupakan manfaat yang sangat dijual. Echinacea dapat digunakan sebagai terapi terhadap penyakit dan bukan sebagai pencegahan. Penggunaan Echinacea terhadap paparan Rhinovirus tidak memiliki efek yang signifikan dalam mengurangi bahaya infeksi Rhinovirus. Echinacea tidak menurunkan insiden terhadap penyakit. Tumbuhan ini juga tidak menyembuhkan common cold atau influenza tetapi hanya meringankan gejala dan mengurangi durasi penyakitnya saja (Turner, dkk., 2005)

Echinacea relatif aman untuk dikonsumsi, namun terdapat efek samping minor seperti mual, pusing, angioedema, reaksi alergi bila orang yang mengkonsumsi mempunyai alergi terhadap Echinacea itu sendiri. Penderita asma umumnya lebih sensitif terhadap Echinacea. Echinacea tidak dianjurkan untuk dikonsumsi bagi wanita hamil, penderita TB, penderita penyakit autoimmune dan penderita HIV AIDS. Pada penderita HIV AIDS dapat terjadi eksaserbasi dan peningkatan penumpukan virus. Echinacea juga tidak boleh digunakan dalam jangka waktu panjang yaitu tidak boleh lebih dari delapan minggu karena dapat menyebabkan

sistem imun tubuh menjadi menurun. Echinacea hanya mempunyai efektivitas pada pemberian 1-2 minggu (Bauer, dkk., 2005).

3, Keterbatasan Penelitian

- 3.1. Kurangnya ketelitian dalam melakukan penelitian memungkinkan terjadinya bias data yang diperoleh.
- 3.2. Adanya pengaruh genetik dari masing-masing hewan coba dapat mempengaruhi sistem imun.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

- 1.1. Ada pengaruh tempe terhadap kemampuan fagositosis makrofag pada mencit jantan strain Balb/c kelompok perlakuan yang diberikan tempe dengan dosis 0,5 gram melalui sonde 1 kali dalam sehari selama 12 hari.
- 1.2. Ada perbedaan rerata kemampuan fagositosis pada mencit jantan strain Balb/c kelompok perlakuan yang diberikan tempe dengan dosis 0,5 gram melalui sonde 1 kali dalam sehari selama 12 hari dengan mencit jantan strain Balb/c kelompok kontrol positif yang diberikan 1 mg *imboost tablet* dalam 1 cc air melalui sonde 1 kali dalam sehari selama 12 hari.
- 1.3. Ada perbedaan rerata kemampuan fagositosis pada mencit jantan strain Balb/c kelompok perlakuan yang diberikan tempe dengan dosis 0,5 gram melalui sonde 1 kali dalam sehari selama 12 hari dengan mencit jantan strain Balb/c kelompok kontrol negatif yang diberikan 1 cc air melalui sonde 1 kali sehari selama 12 hari.
- 1.4. Ada perbedaan rerata kemampuan fagositosis pada mencit jantan strain Balb/c kelompok kontrol positif yang diberikan 1 mg *imboost tablet* dalam 1 cc air melalui sonde 1 kali dalam sehari selama 12 hari dengan mencit jantan strain Balb/c kelompok kontrol negatif yang diberikan 1 cc air melalui sonde 1 kali sehari selama 12 hari.

2. Saran

2.1. Kelompok perlakuan pada penelitian ini diberikan tempe dalam keadaan mentah. Sedangkan untuk konsumsi manusia, tempe harus diolah terlebih dahulu. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lanjut dengan menggunakan tempe yang telah diolah seperti tempe yang telah di goreng, dipanggang, atau direbus .



DAFTAR PUSTAKA

- Afanas'ev, I.B., A.I. Dorozkho, A.V. Brodskii, V.A. Kostynk, dan A.I. Patopovitch. 1999. " *chelating and free radical scavenging Mechanisms of Inhibitory Action of Rutin and Quercetin in Lipid Peroxidation* " .Russia.
- Aguas AP, 1999. *Effect exposure on BALB/c mice splenic lymphocytes. Aviat Space Environ Med.* ;70(3 Pt 2):A128-31.
- Astawan, M., 2003. *Sehat Dengan Tempe Panduan Lengkap Menjaga Kesehatan dengan Tempe*, PT Dian Rakyat, Jakarta.
- Baratawidjaja, K.G., 2000, *Imunologi Dasar . Edisi ke-5*, Balai Penerbit FKUI, Jakarta
- Bartram, T., 1995, *Encyclopedia of Herbal Medicine*, Grace Publishers, Dorset, England.: 161-2
- Bauer R, Jurcic K, Puhlmann J, Wagner H, 1988, *Immunological in vivo and in vitro examinations of echinacea extracts*. *Arzneimittelforschung* 38(2):276-81.
- Burger, R., Torres, A., Warren, R., Caldwell, V., Hughes, B., 1997, *Echin.icea-induced cytokine production by human macrophages*. *Int J Immunopharmacol.*; 19(7): 371-9
- Cahyadi, N. S., 2004, *Tempe Generasi Ketiga & Kesehatan*, dikutip dari <http://www.pikiranrakyat.com/cetak/0604/24/cakrawala/lainnya03.htm> . 10 Maret 2006 diakses tanggal 16 Februari 2011.
- Dahlan , S, 2004, *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan*, PT. Arkans Entertainment and Education in Harmoni, Jakarta
- Hampton, 1999, *Prosedur Laboratorium Patologi Klinik*, EGC.
- Heber D, Zhang J, Henning SM., *NADPH- cytochrome P-450 reductase, cytochrome P-450 2C11 and P-450 1A1, and the aryl hydrocarbon receptor in livers of rats fed methyl- folate- deficient diets*. *Nutrition* 1997; 28(2):160- 64
- Hempstock , 1999, *Inhibition of growth of primary human prostate cells by phytoestrogens*, *J. Med. Food*.
- Herbal Therapy Association, 2004, *Pemberian Terapi Imunomodulator Herbal*, dikutip dari <http://www.yanmedikdepkes.net/> diakses tanggal 16 Februari 2011

- Indah, T.W., Wardani, H.E., Nurhayati, D., 2004, *Pengaruh Pemberian Berbagai Dosis Seng terhadap Kemampuan Fagositosis makrofag Mencit Balb/c Yang diInokulasi Salmonella Typhimurium*, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Ishimoto, 2008, *Single-Cell Observation Of Phagocytosis By Human Blood Dendritic Cells*, Japan.
- Janeway, 2001, *Immunobiology*. Jurnal Garland Science. Diakses dari <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=imm&part=A161>, diakses pada 3 Oktober 2010.
- Karnen, 2001, *Imunologi Dasar Rdisis 4* , FKUI, Jakarta
- Kaufman, 1997, *A Comparative Survey Of Leguminous Plants As Sources Of The Isoflavones, Genistein And Daidzein: Implications For Human Nutrition And Health*, *J Altern Complement Med* 3 (1): 7–12.
- Koswara, S., 2006, *Isoflavon Senyawa Multi Manfaat Dalam Kedelai*, dikutip dari <http://www.ebookpangan.com> diakses tanggal 16 Februari 2011.
- Kresno, Boedina S, 2007, *Imunologi : Diagnosis Dan Prosedur Laboratorium Edisi Keempat*, Balai penerbit FKUI, Jakarta.
- Kumar, R, 2007 , *Buku Ajar Patologi* , Jakarta
- Lampe, J., W., 1999, *Health effects of vegetables and fruit: assessing mecharisms of action in human experimental studies*, *Am J Clin Nutr* 70:475S-490S.
- Meydani, M., 2000, *Effect of functional food ingredients: Vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly*. *Am J Clin Nutr* 71:1665S-1668S.
- Miladiyah, I., 2004, *Isoflavon Kedelai sebagai alternatif Terapi Sulih Hormon (TSH)*, *Jurnal Kedokteran YARSI*, Lembaga Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas YARSI, Jakarta.
- Mishima, S., Saito, K., Maruyama, H., Inoue, M., Yamashita, T., Ishida, T., Gu, Y., 2004, *Antioxidant and immuno-enhancing effects of Echinacea purpurea*, *Biol Pharm Bull.*;27(7):1004-9.
- Molteni, 2003, *In Vitro Hormonal Effect of Soybean Isoflavone* , *Journal of Nutritional*

- Nagata , 2001, *Dietary Isoflavones May Protection againts Prostate Cancer in japanese men* , Journal of America society for nutrition , Amerika
- Notoadmojo, S, 2005, *Metodologi Penelitian Kesehatan* , PT. Rineka Cipta, Jakarta.
- Nurhidajah, Anwar, S., Nurrahman, 2007, *Daya Terima Dan Kualitas Protein In Vitro Tempe Kedelai Hitam (Glycine Soja) Yang Diolah Pada Suhu Tinggi*, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Pawiroharsono, 2001, *Prospek dan Manfaat Isoflavon untuk Kesehatan*, Direktorat Teknologi Bioindustri Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, Yogyakarta.
- Potter M, 1995. History of the BALB/c family, pp 1-5. In: *The BALB/c Mouse: Genetics and Immunology, Current Topics in Microbiology and Immunology*, Vol. 122. Springer-Verlag, NY.
- Pratiknya, A. W, 2003, *Dasar-dasar metodologi penelitian kedokteran dan kesehatan*, PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Ranich, T, 2001, *Protective Effects Of Phytoestrogens In Chronic Renal Disease*. Jurnal of Renal Nutr 11 : 183 – 193.
- Rink, L., Kirchner, H., 2000, *Zinc-altered immune function and cytokine production*, J Nutr 130:1407S-1411S
- Russel, 2004, *Safety of soy based formulas containing Isoflavones : The clinical Evidence*, American society for nutritional science
- Sakai, T, 2006, *Genistein suppresses antigen specific immune responses through competition with 17 β - estradiol for estrogen receptors in ovalbumin-immunized BALB/c mice*. Jurnal of Nutrition 22 : 802 – 809.
- Saputra, L., 2001, *Kacang Kedelai*, Lucky publisher , Batam
- Sarwono, B , 2007 *Membuat Tempe dan oncom* , Penebar swadaya : Jakarta.
- Sastroasmoro, S., 2008, *Dasar- dasar metodologi penelitian klinis*, CV. Sagung seto , jakarta.
- Schultz, 2005, *Extracellular matrix: review of its roles in acute and chronic wounds*, California.
- Shurtleff, 1986, *Tempeh Production: A Craft And Technical Manual* (edisi ke-2nd), The Soyfoods Center, Lafayette.

- Shurtleff, 2001, *The Book of Tempeh* (edisi ke-2nd), Ten Speed Press, hlm. hlm. 146, Berkeley.
- Sugiyono, 2006, *statistika untuk penelitian*, CV. Alfabeta, Bandung
- Suhairi, L., 2007, *Pemanasan Berulang terhadap Kandungan Gizi Sie Reuboh. Makanan Tradisional Aceh*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sullivan, A., Jennifer, L., 2008, *Echinacea-Induced Macrophage Activation*, *Immunopharmacology & immunotoxicology*, 30 : 553-574
- Tsukuda, K., 1997, *Suppression Of Lectin, Alloantigen, And Xenoantigen- Induced T- Cell Proliferation By Genistein*. *Transplant Proc* : 29.
- Turner, Ronald, B., Bauer, R., Karin, W., 2005, *Echinacea Treatment of Experimental Rhinovirus Infection*, *New England Journal of Medicine* vol 353 no 4
- Wang, 1994, *Isoflavone Content In Commercial Soybean Foods*. *Jurnal of Agric Food Chem* : 42.
- Widianarko, B., 2000, *Tempe Makanan Populer dan Bergizi Tinggi*, dikutip dari <http://www.bebas.vlsm.org/v12/artikel/pangan/tipsangan/TEK12.PD> F. 15 Maret 2006. diakses tanggal 16 Februari 2011.
- Wijaya, A., 1996, *Radikal bebas dan parameter status antioksidan*, *Forum Diagnosticum. Lab Klinik Prodia* 1:1-12
- Wijayakusuma, H., 2007, *Penyembuhan dengan Kedelai*, Sarana Pustaka Prima, Jakarta.
- Winarsi, H., 2005, *Efek Suplementasi Zn terhadap status imun wanita premenopause yang Diintervensi dengan Minuman Berisoflavone*, Purwokerto
- Winarsi, H., Muchtadi, D., Zakaria, F.R., Purwanto, A., 2005, *Efek Suplementasi Zn terhadap Status Imun Wanita Premenopause yang Diintervensi dengan Minuman Berisoflavon*, Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- Yellayi, S., 2002, *The phytoestrogen genistein induces thymic and immune changes : a human health concern*. *Proc Natl Acad Sci* 99 : 7616 - 7621, USA
- Yellayi, S., 2003, *The phytoestrogen genistein suppresses cell - mediated immunity in mice*. *Jurnal of Endocrinol* 176 : 267 - 274.

Zhang Yong,Zhu Yu-jing, Ren Hui-ling, Sun Jing-xia, Wang Rui, 2008, *Effects of Isoflavone Extract from Red Clover on Growth Performance and Immune Function in Mice*, China.

Zakaria, F., R., Susanto, H., Hartoyo, 2000, *Pengaruh konsumsi jahe (Zingiber officinale Roscoe) terhadap kadar malonaldehida dan vitamin E plasma pada mahasiswa pesantren Ulil Albaab Kedung Badak*, *Bul Teknol Industri Pangan* 11:36-40, Bogor.

Zukesti, 2003, *Daya Fagositosis Makrofag Pada Jaringan Longgar Tubuh*, USU Digital Library.

