

**PENINGKATAN SITOKIN INTERFERON GAMA TIKUS
WISTAR SETELAH DIBERIKAN EKSTRAK ETANOL BUAH
Etlingera rubroloba A.D. Poulsen SEBAGAI IMUNOSTIMULATOR**

**INCREASED INTERFERON-GAMMA CYTOKINES IN WISTAR
RATS TREATED WITH *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen FRUITS
ETANOL EXTRACT AS IMMUNOSTIMULATORS**

**Muhammad Ilyas Y.^{1,2*}, Fadhliyah Malik², Wahyuni², Asriullah Jabbar²,
Faradilla², I Sahidin², Nurhikma³**

¹Politeknik Bina Husada Kendari, Kendari, 93117, Indonesia

²Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo, Kendari, 93232, Indonesia

³Instalasi Farmasi, RSUD Bahteramas Kendari, 93116, Indonesia

*Email Corresponding: ilyasyusufmuhammad.apt@gmail.com

Submitted: 20 February 2023 Revised: 10 March 2023 Accepted: 10 March 2023

ABSTRAK

Etlingera rubroloba A.D. Poulsen (*E. rubroloba*) merupakan tumbuhan endemik di Sulawesi Tenggara, dan secara empiris oleh masyarakat etnis Wawonii digunakan untuk menyembuhkan demam tifoid dan meningkatkan daya tahan tubuh (imunostimulator), secara ilmiah terbukti meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag sehingga berpotensi dikembangkan sebagai imunomodulator alami. Tujuan penelitian yaitu mengetahui efek imunostilator ekstrak etanol buah *E. rubroloba* dengan, mengukur peningkatan kadar *Interferon gama* (IFN- γ) pada tikus wistar. Metode penelitian ini yaitu eksperimental menggunakan 24 tikus wistar jantan, dibagi dalam 6 kelompok perlakuan yaitu ekstrak dosis 200, 300, 400 (mg/kgBB), kontrol positif (ekstrak meniran komersil), kontrol pelarut (Na.CMC 0,5%), dan kontrol normal. Perlakuan diberikan secara peroral setiap hari, selama 7 hari, hari kedelapan hewan uji diinfeksi secara intraperitoneal bakteri *Staphylococcus aureus*. Kadar IFN- γ dianalisis dengan metode Elisa sandwich, dan data diuji statistik dengan ANOVA satu arah. Penelitian ini memberikan hasil bahwa, perlakuan ketiga dosis ekstrak etanol dari buah *E. rubroloba* berefek sebagai imunostimulator, dengan meningkatkan kadar IFN- γ , dan secara statistik berbeda bermakna terhadap kontrol pelarut ($p < 0,05$), sehingga tumbuhan ini menjadi salah satu alternatif agen imunomodulator dari alam yang dapat dikembangkan.

Kata Kunci : Buah *Etlingera rubroloba*, ekstrak etanol, Interferon gama, Imunodulator, tikus wistar.

ABSTRACT

Etlingera rubroloba A.D. Poulsen (*E. rubroloba*) is an endemic plant in Southeast Sulawesi that has been empirically used to cure typhoid fever and increase endurance (immunostimulator) by the Wawonii ethnic community. It has been scientifically proven to increase the phagocytic activity of macrophage cells, so it has the potential to be developed as a natural immunomodulator. The objective of the study was to determine the immunostimulatory effect of the ethanol extract of *E. rubroloba* fruit by measuring the increase in *Interferon-gamma* (IFN- γ) levels in Wistar rats. Experimentally, 24 male Wistar mice were divided into six treatment groups, including positive control (commercial meniran extract), solvent control (Na.CMC 0.5%), normal control, and ethanol extract at doses of 200, 300, and 400 (mg/kg BB). The treatment was given orally for seven days, and on the eighth day, the animal was infected intraperitoneally with *Staphylococcus aureus* bacteria.

The sandwich Elisa method was used to analyze IFN- γ levels, and a one-way ANOVA was performed on the data. This study found that all three doses of ethanol extract from the fruit of *E. rubroloba* acted as an immunostimulator by increasing IFN- γ levels and statistically differing significantly from the solvent control ($p < 0.05$), thereby establishing this plant as one of the alternative immunomodulatory agents that could be developed from nature.

Keywords: *Etlingera rubroloba* fruits, ethanol extract, interferon-gamma, immunodulator, wistar rats.

PENDAHULUAN

Sistem imunitas tubuh berperan dalam pertahanan tubuh dari berbagai invasi patogen, melalui mekanisme pertahanan imun *innate* dan *adaptive* terhadap mikroba ataupun agen patogen lain (Besung *et al.*, 2016). Kondisi fungsi sistem imun yang lemah, berakibat penyakit infeksi mudah menyerang tubuh seseorang, yang berdampak langsung pada peningkatan kerentanan seseorang terhadap terjadinya penyakit infeksi (Mayasari dan Arum, 2009).

Sel makrofag merupakan pertahan lini pertama bagi sistem imun *innate*, dengan perannya yang strategis di dalam sistem pertahanan tubuh, dimana fungsi fagositosisnya terhadap berbagai patogen mikroorganisme dan mensekresikan beberapa sitokin proinflamasi. Berbagai efektor sel yang terlibat di dalam proses inflamasi akan mensekresikan berbagai jenis sitokin fungsional sebagai pertahanan tubuh (Abbas, 2016). Fungsi berbagai efektor sel dan produk yang disekresikannya dapat dicegah dan ditingkatkan fungsinya oleh bahan-bahan imunomodulator, seperti immunosupresor dan immunostimulator dimana kedua bahan tersebut dapat diperoleh dari bahan alam, di antaranya dari tumbuhan berkhasiat obat (Fristiohady *et al.*, 2020; Yusuf, Firdayanti dan Wahyuni, 2019).

Salah satu aktivasi sel makrofag dapat ditingkatkan yakni melalui peran sitokin Interferon gama (IFN- γ). IFN- γ secara endogen, terutama dihasilkan oleh sel limfosit T CD4, limfosit T sitotoksik (CD8), dan sel *Natural Killer* (sel NK) yang diaktifkan akibat respon imun tubuh terhadap stimulus antigen spesifik (Jorgovanovic *et al.* 2020). Sitokin utama IFN- γ berperan dalam aktivasi sel makrofag dan memiliki fungsi yang sangat penting dalam meningkatkan fungsi *cell mediated immunity* terhadap daya bunuh antigen intraseluler. IFN- γ terdeteksi 1 jam setelah infeksi berlangsung, kadarnya akan mencapai level maksimum pada 12 - 24 jam (Wahyuniati, 2017; Abbas, 2016). IFN- γ mengaktifkan sel imunokompeten seperti sel makrofag dan sel NK untuk meningkatkan aktivitas fagositosis dan kemampuan membunuh patogen. Aktivitas IFN- γ lainnya yakni melalui stimulasi sel imunokompeten lainnya dari sel imun dengan meningkatkan ekspresi protein MHC kelas I, mempromosikan aktivitas sel NK dan mengaktifkan *Antigen Presenting Cell* (APC) (Widjaja, 2010; Ilyas *et al.*, 2020). Mengingat pentingnya peran dari sitokin IFN- γ dalam mengaktifkan fungsi sistem imun, sehingga sangat penting menjaga kondisi yang seimbang dalam tubuh.

Menjaga sistem imun tubuh agar tetap optimal fungsinya menjadi sangat penting dilakukan setiap saat, untuk mencegah terjadinya infeksi oleh mikroorganisme patogen dan terutama pada kondisi infeksi berlangsung. Upaya menjaga fungsi sistem imun tubuh agar tetap optimal terutama pada saat terjadi infeksi, dapat dilakukan dengan cara pemberian suatu bahan yang bersifat imunomodulator, dengan bekerja mengembalikan ketidakseimbangan fungsi sistem imun tubuh yang terganggu (Ulifah, *et al.*, 2017; Wahyuni *et al.*, 2017).

Imunomodulator dapat diperoleh dari tumbuhan seperti *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen (*E. rubroloba*). Tumbuhan ini banyak ditemukan di Sulawesi Tenggara, dan secara empiris masyarakat etnis Wawonii menggunakan perasan buahnya untuk menyembuhkan demam tifoid dan meningkatkan daya tahan tubuhnya (Imunomodulator). Beberapa hasil penelitian melaporkan *E. rubroloba* terbukti memiliki aktivitas antioksidan (Jabbar *et al.*, 2021; Jabbar *et al.*, 2022), terbukti sebagai imunomodulator melalui peningkatan fungsi sel makrofag dalam melakukan fagositosis, meningkatkan sel limfosit T sitotoksik (CD8),

(Malik *et al.*, 2022; Y *et al.*, 2021). Senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, saponin dan tannin sudah dilaporkan terdapat dalam tumbuhan *E.rubroloba* (Y.M. Ilyas *et al.*, 2022). Sampai saat ini data ilmiah tentang efek imunostimulator dengan terhadap peningkatan sitokin IFN- γ dari ekstrak etanol buah *E.rubroloba* belum dikaji, berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk membuktikan lebih lanjut tentang efek ekstrak etanol buah tumbuhan *E. rubroloba* dengan mengukur peningkatan kadar IFN- γ pada hewan uji tikus wistar, sehingga hasil penelitian ini menjadi salah satu data ilmiah dalam pengembangan agen imunomodulator dari alam, khususnya sebagai imunostimulator.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan alat-alat antara lain; rotary evaporator (Buchi), autoklaf (Daihan Lab Tech®), blender (Philips®), timbangan analitik (Precisa®), gelas ukur (Pyrex®), oven (inaco), inkubator (Mettler®), Laminar Air Flow (LAF) (Biobase), *Eliza reader* (Merck®).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar diperoleh dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo, kit Rat IFN- γ ELISA *Sanwich* (*Bioassay Technology Laboratory*®), bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923®, etanol 96%, etanol 70%, standar Mc. Farlan, akuades, Na-CMC 0,5% (*Food Grade*®), NaCl fisiologis, ketamine HCl (Dexa medica®), Nutrient Agar (NA) (*Merck*®), ekstrak meniran komersil (Dexa medica®) dan sampel buah *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen diperoleh di Kabupaten Konawe Selatan, Desa Punggaluku, dipanen bulan Juni - Agustus 2021. Sampel tumbuhan ini sudah dilakukan determinasi di LIPI Cibinong untuk memastikan kebenaran sampel yang digunakan (Y *et al.* 2021).

Prosedur Penelitian

1. Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi. Sebanyak 2,8 kg serbuk buah *E. rubroloba* A.D. Poulsen dimasukkan ke dalam wadah maserator dan direndam dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam. Penelitian ini menggunakan perbandingan 1 : 2 (jumlah pelarut yang digunakan dua kali dari jumlah sampel serbuk simplisia) (Y *et al.*, 2021). Filtrat dikumpulkan dan dipekatkan pada suhu 50°C dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak ditimbang untuk mengetahui bobotnya (Ilyas, *et al.* 2020; (Y, Saehu, *et al.* 2021).

2. Perlakuan Hewan Uji

Penelitian ini sudah disetujui oleh komisi etik penelitian kesehatan, Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Universitas Halu Oleo nomor : 707/UN29.20/PPM/2020. Hewan uji tikus wistar jantan dibagi dalam 6 kelompok perlakuan, terdiri dari kelompok normal, kelompok kontrol pelarut (Na-CMC 0,5%), kelompok kontrol positif (ekstrak meniran komersil®) terbukti meningkatkan IFN- γ (Jannah *et al.* 2016; Hikmah and Triastuti 2022), kelompok perlakuan dosis 200, 300 dan 400 (mg/kg BB). Perlakuan hewan uji dilakukan setiap 1 hari sekali selama 7 hari secara peroral dengan volume pemberian 3 mL per ekor ekor dengan ketentuan masing-masing kelompok : kontrol normal hewan uji tanpa perlakuan dan hanya diberikan pakan standar; kontrol positif diberikan ekstrak meniran komersil dosis 0,135 mg/kgBB; kontrol pelarut diberikan suspensi Na. CMC 0,5 %; dan kelompok perlakuan ekstrak dosis 200, 300, dan 400 (mg/kgBB) (Y *et al.*, 2021; Y *et al.* 2022).

3. Pengukuran Kadar IFN- γ Dengan Metode ELISA *Sanwich*

Pada pengujian hari ke-8, hewan uji tikus diinfeksi dengan 0,5 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* (150×10^6 CFU/mL) melalui intraperitoneal dan dibiarkan selama 1 jam (Yusuf, Firdayanti dan Wahyuni, 2019; M.Y. Ilyas *et al.*, 2020). Di daerah peritoneal lebih banyak mengandung sel-sel polimorfonuklear dan makrofag sebagai sel presentasi antigen untuk jalur aktivasi sistem imun adaptiv (Nakiboneka *et*

al., 2019). Tikus diautanasi dengan ketamine HCl lalu diambil sampel darah pada bagian vena ekor lateral. Sampel darah yang diperoleh disimpan dalam tabung *vacutainer* yang berisi antikoagulan EDTA 0,1% dan disentrifugasi pada suhu 25°C, kecepatan 3000 rpm selama 20 menit, plasma yang diambil, dimasukkan ke dalam tabung *ependorf*, disimpan dalam lemari pendingin sampai waktu pemeriksaan IFN- γ . Pengukuran kadar IFN- γ dilakukan menggunakan kit ELISA IFN- γ anti- rat mengikuti protokol pada kit, selanjutnya absorbansi diukur pada *ELISA reader* panjang gelombang 450 nm (Widjaja, 2010; Y *et al.*, 2022).

Analisis Data

Data diolah dengan aplikasi SPSS (*Statistical Product and Service Solution*). Analisa kadar IFN- γ dilakukan menggunakan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) satu arah dengan syarat terdistribusi normal, dengan taraf kepercayaan 95% dan tingkat signifikansi (tingkat kesalahan 5% ($\alpha=0,05$)). ANOVA satu arah digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan efek antar kelompok. Perbedaan dinyatakan signifikan apabila $p < 0,05$ (Yusuf *et al.*, 2018; Fristiohady *et al.*, 2022).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan Sampel dan Ekstraksi

Sampel buah *E. rubroloba* diambil di daerah endemik yaitu Kecamatan Laeya, Desa Punggaluku, Kabupaten Konawe Selatan, Provinsi Sulawesi Tenggara. Sampel buah yang telah masak ditandai dengan warna buah yang berwarna kemerahan, dan dikumpulkan sebanyak 20 kg. Buah yang telah disortasi basah, dirajang agar mempermudah dalam proses pengeringan (Y *et al.*, 2021). Selanjutnya dilakukan pembuatan simplisia kering untuk mengurangi kadar air pada sampel, sehingga dapat mencegah pembusukan oleh bakteri (Ilyas Y *et al.*, 2021).

Ekstraksi metode dingin (maserasi) digunakan pada penelitian ini, yaitu zat aktif dalam sampel terlarut dalam cairan penyari yang menembus dinding sel, oleh adanya perbedaan konsentrasi pada senyawa target di dalam sel dan di luar sel, sehingga pelarut yang konsentrasinya lebih tinggi terdorong ke luar sel, dimana peristiwa ini berkesinambungan sampai terjadi kejenuhan pelarut atau semua senyawa target di dalam sampel sudah terlarut semua dalam pelarut yang digunakan (Susanty dan Fairus, 2016). Pemilihan pelarut etanol 96% didasarkan pada sifat kepolarannya yang mampu menarik paling banyak senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar, sehingga optimum dalam menarik senyawa alkaloid, flavonoid dan fenolik (M. I. Yusuf *et al.*, 2018; Yusuf *et al.*, 2018). Hasil ekstraksi dengan maserasi diperoleh ekstrak kental buah *E. rubroloba* sebanyak 364,4 g dengan nilai rendamen 13,01% (Y *et al.*, 2021). Nilai rendemen ini sangat diperlukan karena untuk mengetahui jumlah ekstrak yang didapatkan pada ekstraksi yang dilakukan, hal ini berkaitan dengan komponen senyawa bioaktif dalam sampel, dimana jumlah rendemen yang besar akan mendapatkan lebih banyak senyawa aktif dalam ekstrak buah *E. rubroloba* (Fristiohady, Wahyuni, Malik, Fariane, et al. 2020).

Efek Imunostimulator Ekstrak Etanol Buah *E. rubroloba*

Penelitian ini menguji efek imunostimulator ekstrak etanol buah *E. rubroloba* A.D. Poulsen dengan melihat peningkatan kadar IFN- γ pada tikus wistar, dengan menggunakan tiga variasi dosis yaitu dosis 200, 300 dan 400 (mg/kg BB). Variasi dosis ini dipilih berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Wahyuni *et al.*, (2017) menggunakan tumbuhan *Etilingera elatior* dari genus yang sama dan penelitian yang dilakukan oleh Y *et al.*, (2021) menggunakan sampel buah dari tumbuhan *E. rubroloba*, dimana dosis 400 mg/kg BB menunjukkan efek imunostimulator yang paling baik berdasarkan peningkatan aktivitas fagositosis sel makrofag dan kadar CD8 pada hewan uji rat wistar jantan yang terinfeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus*.

Bakteri *S. aureus* digunakan sebagai penginfeksi karena merupakan bakteri patogen gram positif serta bersifat antifagositosis terhadap sel imun, sehingga dapat digunakan untuk

menstimulasi aktivasi sel-sel fagositosis sebagai pertahanan *innate* dan *adaptive* (Yusuf, Firdayanti dan Wahyuni, 2019; Malik *et al.*, 2022). Sistem imun *innate* melakukan respon terhadap antigen melalui sel makrofag selama periode 1 jam terjadinya patogen (Abbas, 2016). Oleh karena itu, pengambilan sampel darah dilakukan paling cepat 60 menit setelah infeksi berlangsung, sehingga memberikan gambaran pada peningkatan fungsi sistem imun meregulasi sitokin IFN- γ untuk mengatasi invasi patogen tersebut (Dewi *et al.*, 2013).

Pengukuran kadar IFN- γ dengan metode ELISA merupakan metode yang bekerja berdasarkan prinsip reaksi imunologi dengan melibatkan enzim sebagai salah satu penanda adanya interaksi respon imun secara *in vitro* (Rohima dan Ina, 2018). Metode ELISA memiliki prinsip dasar yaitu berdasarkan interaksi sampel mengandung antigen dengan antibodi diketahui yang dilabel enzim. Enzim pada antibodi berikatan secara kompleks dengan antigen spesifik dari sampel, selanjutnya bereaksi dengan substrat menghasilkan warna. Warna yang terbentuk ditentukan nilai absorbansinya (OD) secara kuantitatif pada ELISA *plate reader* (Nakiboneka *et al.*, 2019).

Hasil kadar IFN- γ tiap kelompok perlakuan pada **Tabel I**, menunjukkan rata-rata kadar IFN- γ tertinggi adalah kelompok normal dibandingkan kelompok lainnya, hal ini digunakan sebagai rujukan standar nilai normal kadar IFN- γ dalam penelitian ini, dimana kontrol normal tanpa perlakuan penginfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga kadar IFN- γ dalam hewan uji tidak mengalami penurunan yang berbeda dengan pada kelompok hewan uji kontrol pelarut, kontrol positif dan kelompok ekstrak yang dilakukan penginfeksi bakteri sehingga mengalami penurunan kadar IFN- γ .

Tabel I. Hasil Rata-Rata Kadar IFN- γ Tiap Kelompok Pada Tikus Setelah Perlakuan Ekstrak Etanol *E. rubroloba*

Kelompok	Rata-Rata Kadar IFN- γ (ng/mL)	\pm SD
Kontrol normal (tanpa perlakuan)	3,82 ^{*a}	0,19
Kontrol negatif (Na-CMC 0,5 %)	0,93	0,16
Kontrol positif (ekstrak meniran komersil [®])	2,52 ^{*a}	0,18
Ekstrak dosis 200 mg/kg BB	2,93 ^{*a}	0,17
Ekstrak dosis 300 mg/kg BB	3,18 ^{*a}	0,12
Ekstrak dosis 400 mg/kg BB	1,38 ^{*a,b}	0,71

Keterangan :

Uji *pos hoc Tukey*

a* = berbeda signifikan terhadap kontrol negatif ($p < 0.05$);

b* = berbeda signifikan terhadap kontrol positif ($p < 0.05$)

Sitokin utama dari *Macrophage activating cytokine* diperankan oleh IFN- γ , karena aktivator utama terhadap sel makrofag dalam meningkatkan fungsi fagositosis dan memainkan peran kunci dalam aktivasi imunitas seluler spesifik dalam mengatasi infeksi bakteri dan virus (Jorgovanovic *et al.*, 2020; Nakiboneka *et al.*, 2019). Untuk menilai adanya peningkatan aktivitas imunostimulan dari perlakuan sampel uji serta kontrol positif sebagai imunostimulator. Rata-rata kadar IFN- γ pada kelompok dosis ekstrak 200 dan 300 (mg/kg BB) lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol positif, sedangkan kelompok dosis 400 mg/kg BB dan kontrol negatif lebih rendah kadar IFN- γ dibandingkan dengan kontrol positif. Berdasarkan pada **Error! Reference source not found.I** tersebut, dengan melihat hasil rata-rata kadar IFN- γ , yang paling berpotensi dalam meningkatkan fungsi sistem imun atau sebagai imunostimulator berdasarkan peningkatan kadar IFN- γ adalah kelompok ekstrak dosis 300 mg/kg BB, dibandingkan ekstrak dosis 200, dan 400 mg/kg BB, penggunaan tiga dosis perlakuan pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis efektif yang lebih kecil dan lebih besar dari dosis penelitian sebelumnya sebagai imunomodulator yaitu 300 mg/kg

BB, serta kontrol positif sebagai kelompok pembanding yang sudah terbukti secara ilmiah sebagai imunomodulator obat herbal terstandar (OHT).

Hasil analisis uji *post hoc* Tukey pada **Tabel I** menunjukkan kelompok perlakuan ekstrak berbeda signifikan dengan kontrol pelarut ($p < 0,05$), hal ini menjelaskan ketiga perlakuan dosis ekstrak buah *E. rubroloba* memiliki efek atau berpotensi immunostimulator dengan meningkatkan kadar IFN- γ . Selanjutnya kelompok ekstrak dosis 200 dan 300 (mg/kg BB) jika dibandingkan dengan kontrol positif tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$), artinya ekstrak buah *E. rubroloba* dosis 200 dan 300 (mg/kg BB) memiliki efektivitas immunostimulator yang sama dengan kontrol positif yang diberikan ekstrak meniran komersil yang telah teruji dapat meningkatkan fungsi sistem imun/imunomodulator (Yusuf, Firdayanti dan Wahyuni, 2019). Adanya efek immunostimulator pada hewan uji setelah diberikan sampel ekstrak buah *E. rubroloba* diduga karena adanya peran dari metabolit sekunder dalam buah *E. rubroloba* yang dapat meningkatkan fungsi sistem imun. Penelitian oleh Ilyas *et al.*, (2022) dimana ekstrak etanol buah *E. rubroloba* mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dan terpenoid. Senyawa flavonoid memiliki efek immunostimulan dikarenakan flavonoid jenis flavonol glikosida yang bersifat mitogen yang diduga melalui produksi sitokin IL-2, IL-4 dan IL-1 sehingga dapat memacu proliferasi dari sel limfosit T dan limfosit B (Fristiohady *et al.*, 2020; Wahyuni *et al.*, 2019). Proliferasi sel limfosit T akan meningkatkan aktivitas dari limfosit T sitotoksik (CD8) dan limfosit T helper (CD4) (Febrianty dan Sasmito, 2015; Dewi *et al.*, 2013). Sel CD4 berdiferensiasi menjadi limfosit T helper-1 yang mensekresikan sitokin IFN- γ dan TNF- α serta memacu sel *natural killer* (Fristiohady *et al.*, 2021). Sel CD8 juga menghasilkan sitokin IFN- γ , selanjutnya akan mengaktifkan makrofag menghasilkan senyawa nitrit oksida membunuh mikroba dan memfagositosis patogen (Jorgovanovic *et al.*, 2020; Nakiboneka *et al.*, 2019; Y *et al.*, 2021).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol buah *Etilingera rubroloba* A.D. Poulsen berefek sebagai immunostimulator dengan meningkatkan kadar IFN- γ pada hewan uji tikus wistar, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai imunomodulator dari alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., Andrew H. L., dan Shiv P., (2016). *Basic Immunology Functions and Disorders of the Immune System*, Elsevier : Canada.
- Besung, I. N. K., Nyoman M. A., Ketut S., dan Ni K. S., (2016). Hubungan Antara `Aktivasi Makrofag Dengan Kadar Interleukin-6 dan Antibodi Terhadap *Salmonella Typhi* Pada Mencit, *Jurnal Kedokteran Hewan*, Vol. 10 (1).
- Dewi, L. K., Sri W., dan Muhaimin R., (2013). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Terhadap Peningkatan Jumlah Sel T CD4+ dan CD8+ pada Timus Mencit (*Mus musculus*), *Biotropika*, Vol. 1(2).
- Febrianty, H., dan Sasmito D., (2015). Modulasi Sel T CD4 dan CD8 pada Spleen Ayam Arab Putih (*Gallus turcicus*) dengan Ransum yang Mengandung Daun Pepaya (*Carica papaya* L.), *Jurnal Biotropika*, Vol. 3(3).
- Fristiohady, A. *et al.* (2021). "Immunomodulatory Activity of *C. allyspongia* sp . Extract Towards Interferon-gamma (IFN- γ) and Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α) Levels in *Staphylococcus aureus* – Induced Wistar Male Rats", *Biointerface Research In Applied Chemistry*, 11(2), pp. 9311–9317.
- Fristiohady, A., Wahyuni, W., Malik, F., *et al.* (2020a). Level of Cytokine Interleukin-6 and Interleukin 1- β on Infectious Rat Model Treated with *Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith Fruit Extract as Immunomodulator, *Borneo Journal of Pharmacy*, 3 (2), pp. 52–57. doi:10.33084/bjop.v3i2.1318.
- Fristiohady, Adryan, Wahyuni, Fadhliah Malik, Nurjeddah Fariane, *et al.* (2020b). "Uji Aktivitas Antiinfl Amasi In Vitro *Etilingera elatior* (Jack) R. M. Smith Dengan Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah (In Vitro Antiinfl Amatory Activity

- of *Etlingera elatior* (Jack) R. M. Smith by Hrbc Membrane Stabilization Method)." *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 18(2): 150–57.
- Fristiohady, Adryan et al. (2022). "Radical Scavenger and Anti-Diabetic Potencies of *Etlingera elatior* Fruits Growing in South East Sulawesi-Indonesia." *Research Journal of Pharmacy and Technology (RJPT)*, 15(May): 52711.
- Hikmah, U. and Triastuti, A. (2022) 'Mechanism and immunomodulator bioactive compounds of *Phyllanthus niruri* (meniran)', *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy)*, 18(December), pp. 205–218.
- Ilyas, M.Y. et al. (2020a). Penurunan Kadar Kolesterol Triglisierida Tikus Putih Wistar Jantan (*Rattus novergicus*) Yang Diberi Ekstrak Terpurifikasi Batang Galing (*Cayratia trifolia* L. Domin.), *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 4(2), pp. 79–86. doi:10.37874/ms.v4i2.136.
- Ilyas, M.Y. et al. (2020b). Ativitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Spons *Callyspongia* sp. Terhadap Fagositosis Makrofag Pada Mencit Jantan Balb/C, *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 5(1), pp. 44–55.
- Ilyas, Y Muhammad et al. (2022). "Phytochemical Analysis and Immunomodulatory Potential on Diabetic-Infected Tuberculosis by Fruit *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen." *Pakistan Journal of Biological Sciences* 25(7): 669–75. <https://scialert.net/abstract/?doi=pjbs.2022.669.675>.
- Ilyas Y, Muhammad, Ajeng Diantini, E L I Halimah, and Riezki Amalia. (2021). "Potential Immunomodulator Fraction Fruit Of *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen Against Macrophage Phagocytosis And Interleukin-12 Levels In BCG-Stimulated Balb/C Mice." *International Journal of Pharmaceutical Research* 13(1): 3262–69.
- Jannah, R. et al. (2016) 'Efek Ekstrak Etanol Meniran (*Phyllanthus niruri* L) Dosis Rendah Terhadap Jumlah Limfosit T CD4 + Dan IFN- γ Pada Mencit BALB/c Yang Diinfeksi Plasmodium Berghei ANKA', *JURNAL KEDOKTERAN; Media Informasi Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 2(1), pp. 225–232.
- Jabbar, A., Wahyuono, S., Sahidin, I., & Puspitasari, I. (2021). Free radical scavenging activity of methanol extract and compounds isolated from stems of *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1), 1099–1105. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2021.13.01.179>.
- Jabbar, Asriullah et al. 2022. "Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of Ethanol Extract Stem of *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen." *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 25(10): 885–91.
- Jorgovanovic, D. et al. (2020). "Roles of IFN- γ in tumor progression and regression : a review", *Biomarker Research*. *Biomarker Research*, 8(49), pp. 1–16.
- Malik, Fadhliyah et al. 2022. "Aktivitas Imunomodulator Ekstrak. Etanol. Buah *Etlingera rubroloba* A.D. Poulsen. Terhadap Fagositosis Sel Makrofag Pada Tikus Jantan Galur Wistar". *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia* 8(1): 96–112.
- Mayasari, D., Dan Arum, P., 2009, Hubungan Respon Imun Dan Stres Dengan Tingkat Kekambuhan Demam Tifoid Pada Masyarakat Di Wilayah Puskesmas Colomadu Karanganyar, *Berita Ilmu Keperawatan*, Vol 2(1).
- Nakiboneka, Ritah et al. (2019). Interferon Gamma (IFN- γ) Negative CD4 + and CD8 + T-Cells Can Produce Immune Mediators in Response to Viral Antigens. *Vaccine* 37(1): 113–22.
- Rohima, I. E., dan Ina S. N., (2018). Identifikasi Protein Hewani Pada Produk Bumbu Instan dengan Metode Elisa (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), *Pasundan Food Technology Journal*, Vol. 5 (3).
- Susanty dan Fairus B., 2016 Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.), *Konversi*, Vol. 5(2).
- Ulfah, M., Vitri S. N. C., dan Indira K., (2017). Pengaruh Pemberian Seduhan Teh Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag dan

- Proliferasi Sel Limfosit Mencit Galur Balb/C yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B, *Momentum*, Vol. 13 (2).
- Wahyuni, Hajrul M.M., Adryan F., Ilyas M.Y., dan Sahidin, (2017). Potensi Imunomodulator Ekstrak Etanol Buah Kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Smith) terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag Mencit Jantan Galur Balb/c, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, Vol. 6 (3).
- Wahyuni, W. et al. (2019). Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Spons *Melophlus sarasinorum* Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag Pada Mencit Jantan Balb/C, *Jurnal Farmasi Galenika* 5(2), pp. 147–157. doi:10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13611.
- Wahyuniati, N., (2017), Peran Interferon Gamma Pada Infeksi *Mycobacterium tuberculosis*, *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, Vol 17 (2).
- Widjaja J, T., (2010). Jaseputra KD, Roostati R. Analisis Kadar Interferon Gamma pada Penderita Tuberkulosis Paru dan Orang Sehat. *Journal Respiratory Indonesia*.
- Y, Muhammad Ilyas, Ajeng Diantini, Mohammad Ghozali, and I Sahidin. (2021). “Aktivitas Imunostimulator Ekstrak Etanol Buah *Etilingera rubroloba* A.D. Poulsen Terhadap Kadar CD8 Model In Vivo Immunostimulatory Activity Of *Etilingera rubroloba* A.D. Poulsen Fruit Ethanol Extract Against CD8 Levels In Vivo Model.” *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 6(2): 123–32.
- Y, Muhammad Ilyas, Muhammad Syaiful Saehu, et al. (2021). “Efek Antiinflamasi Fraksi Dari Ekstrak Etanol Batang Galing (*Cayratia trifolia* L.Domin) Secara *In Vitro*.” *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis* (Desember): 80–88.
- Y, Muhammad Ilyas et al. (2022). “Immunomodulatory Potency *Etilingera rubroloba* A.D. Poulsen Fruit Ethanol Extract against Macrophage Phagocytic Activity and CD4 Levels in Wistar Male Rats:” *Research Journal of Pharmacy and Technology* 15(September): 4067–72.
- Yusuf, M.I., Firdayanti dan Wahyuni (2019). Peningkatan Imunitas Non Spesifik (*Innate Immunity*) Mencit Balb/C Yang Diberi Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Galing (*Cayratia trifolia* L. Domin), *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 3(2), pp. 83–92. doi:10.37874/ms.v3i2.55.
- Yusuf, Muhammad Ilyas, Selfyana Austin Tee, Karmila Karmila, and Asriullah Jabbar. (2018a). “Efek Hepatoprotektor Ekstrak Terpurifikasi Batang Galing (*Cayratia trifolia* L.Domin) Pada Tikus Putih Wistar Jantan (*Rattus noervegicus*).” *Jurnal Mandala Pharmacoon Indonesia* 4(1): 13–19.
- Yusuf, M. et al. (2018b). Antioxidant and Antidiabetic Potential of Galing Stem Extract (*Cayratia trifolia* Domin), *Pharmacognosy Journal*, 10(4), pp. 686–690. doi:10.5530/pj.2018.4.113.