

Effect of Garlic Extract on The Amount of Cell that Produce Interferon γ in white male BALB/c mice

Titiek Sunaryati*

*Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma
Surabaya

Abstract

Common cold is an infectious disease that is caused by viruses. The purpose of this study is to explain how garlic extract can increase body immunity.

This was experimental study using white male BALB/c strain mice, 10 weeks old with bodyweight of 25-35 grams. Group 1 received placebo (CMC Na) for 14 days. Group 2 received 10mg/kg BW garlic extract for 14 days, and group 3 received 20mg/kg BW garlic extract for 14 days. After 14 days mice were sacrificed then intestines were removed and processed in the paraffin block, then were stained with immunohistochemistry.

There was one variable such as the amount of cell that produce interferon γ . Data were analyzed by analysis of variance Brown Forsythe, any significant different was further analyzed by using Games Howell in the significant level of 0.05. There were significant difference between groups those received placebo, 10mg/kgBw garlic extract, and 20mg/kgBw garlic extract in each variables.

Garlic extract can increase body immunity via increase in the amount of cell that produce interferon γ .

Keywords: common cold, garlic extract, IFN γ .

PENDAHULUAN

Common cold merupakan penyakit virus yang paling sering ditemukan pada manusia. Di Indonesia, Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) selalu menempati urutan pertama penyebab kematian pada kelompok bayi dan balita. Survei mortalitas yang dilakukan oleh Subdit ISPA tahun 2005 menempatkan ISPA sebagai penyebab

kematian bayi terbesar di Indonesia dengan persentase 22,30% dari seluruh kematian balita (Steven, 2009). Bawang putih tidak hanya mencegah *common cold*, tetapi juga dapat memperpendek gejala dan derajat keparahannya (Marta, et al, 2007).

Pada umumnya terapi *common cold* yang digunakan ialah *antihistamin*, *dekongestan*, *antipiretik*, dan *ekspektoran*. Antibiotik digunakan bila terjadi infeksi sekunder (Boies, 1994). Teknik lain yang perlu diberikan ialah dengan meningkatkan imunitas tubuh menggunakan obat *immunomodulator*, salah satunya ialah bawang putih (*Allium sativum* Linn.) (Marta, et al, 2007). Bawang putih adalah tanaman yang kaya senyawa organosulfur, bahan ini dapat meningkatkan imunitas tubuh (Eikai, 2001). Namun sampai sejauh ini mekanisme meningkatnya imunitas tubuh akibat pemberian ekstrak bawang putih belum dapat dijelaskan.

Bawang putih setelah diekstraksi akan menghasilkan zat yang bersifat stabil yaitu *S-allylcysteine*. Zat ini akan berikatan dengan reseptor yang ada di permukaan sel makrofag. Kompleks ini akan mengambil molekul yang berisi *tumor necrosis factor receptor associated death domain* (TRADD) yang akan berinteraksi dengan *Serine-Threonine kinase ribosome inhibiting protein* (RIP) dan *tumor necrosis factor receptor associated factor 2* (TRAF2). Keduanya mengaktifkan *transforming growth factor beta activated kinase 1* (TAK1). TAK1 yang aktif berperan terhadap fosforilasi *inhibitor kinase kappa beta* (IK κ B). IK κ B menyebabkan degradasi *inhibitor kappa beta* (I κ B). Hambatan pada I κ B akan mengaktifkan *nuclear factor kappa beta* (NF κ B) sehingga terjadilah translokasi NF κ B aktif ke inti sel (George, 2002). Di inti NF κ B menstimuli proses transkripsi yang menghasilkan interferon γ (IFN γ) (Neil, 1997). IFN γ akan merangsang aktifitas sitotoksik limfosit (CTL) dan sel *natural killer* (sel NK). IFN γ selanjutnya merangsang aktifitas sel NK untuk membunuh virus atau sel yang terinfeksi virus dan membuat blokade reseptor pada sel tetangga sehingga sel tetangga kebal terhadap infeksi virus (Anthony, 2003).

BAHAN DAN CARA KERJA

A.Sampel penelitian

27 ekor mencit jantan yang dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok 1 sampai kelompok 3 masing-masing sebanyak 9 ekor mencit. Mencit pada kelompok 1 (K) diberi placebo selama 14 hari. Mencit pada kelompok 2 (P1) diberi ekstrak bawang putih 10mg/kgBB dengan dosis 1x/hari selama 14 hari, kelompok 3 (P2) diberi ekstrak bawang putih 20mg/kgBB dengan dosis 1x/hari selama 14 hari.

B.Pemeriksaan imunohistokimia

Pemeriksaan jumlah sel penghasil IFN γ pada usus halus ketiga kelompok mencit dilakukan dengan teknik imunohistokimia. Setiap satu sampel diamati dan dihitung jumlah sel yang menghasilkan IFN γ (sitoplasmanya berwarna coklat) dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x; diamati pada sepuluh lapangan pandang dan dihitung jumlah sel yang memberikan reaksi positif dan negatif terhadap antibodimonoklonal IFN γ .

ANALISIS DAN HASIL PENELITIAN

Hasil perhitungan jumlah sel yang menghasilkan IFN γ pada usus halus ketiga kelompok mencit dihitung persentase, dan dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 Hasil analisis jumlah sel penghasil IFN γ

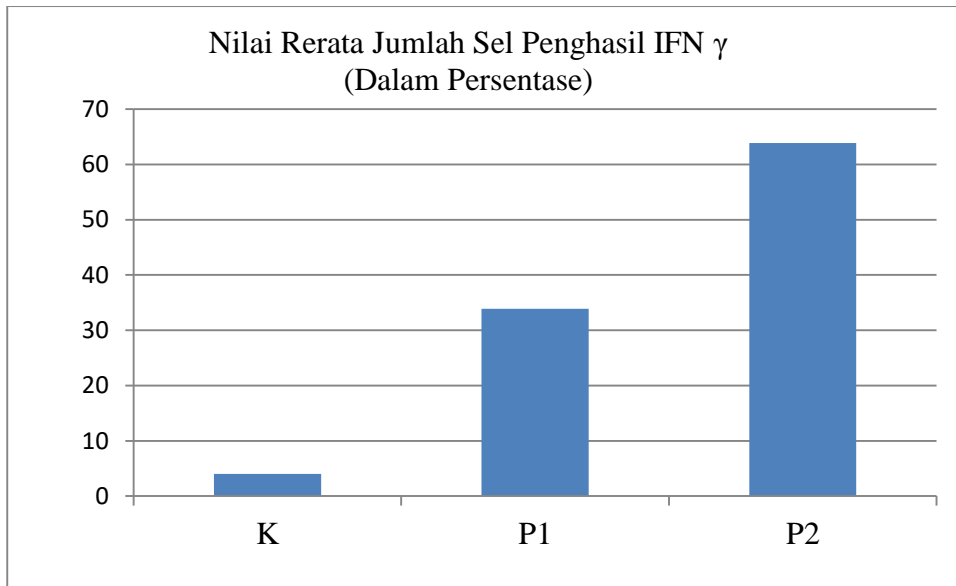
Kelompok	n	Jumlah Sel Penghasil Interferon γ (%)				Brown-Forsythe
		\bar{x}	SD	Min	Maks	
Kontrol(K)	9	4,00 ^a	0,87	3	5	F=821,45 p=0,000*
Bawang Putih 10mg/kgBB(P1)	9	33,89 ^b	3,98	30	40	
Bawang Putih 20mg/kgBB(P2)	9	63,89 ^c	3,59	60	70	

Keterangan : * signifikan pada $\alpha=0,05$

^{a,b,c} superscript yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok (berdasarkan Games-Howell test)

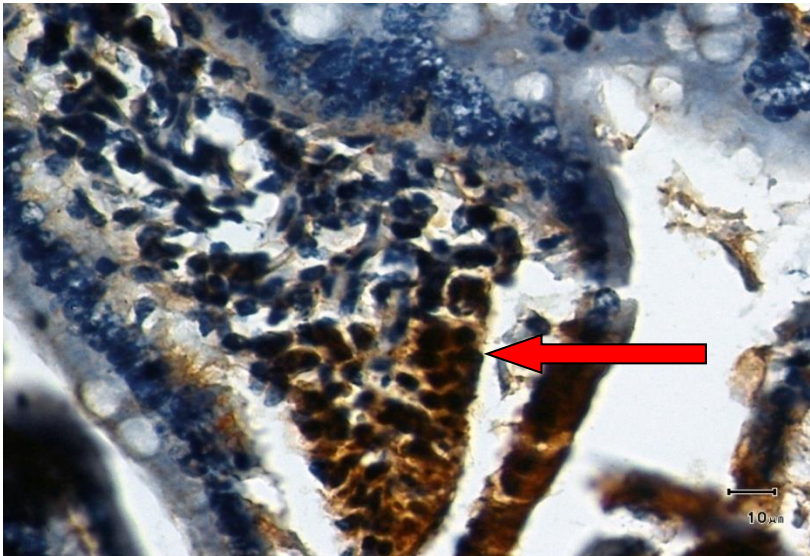
Berdasarkan tabel 1 menunjukkan bahwa nilai rerata \pm SD kelompok kontrol (K) 4,00 \pm 0,87, minimum 3 dan maksimum 5; nilai rerata \pm SD kelompok perlakuan yang diberi bawang putih 10mg/kgBB (P1) ialah 33,89 \pm 3,98, minimum 30 dan maksimum 40; nilai rerata \pm SD kelompok perlakuan yang diberi bawang putih 20mg/kgBB (P2) ialah 63,89 \pm 3,59, minimum 60 dan maksimum 70.

Nilai rerata jumlah sel penghasil interferon γ dihitung berdasarkan persentase, hasilnya dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1 Nilai rerata jumlah sel penghasil interferon γ

Uji Brown-Forsythe didapatkan nilai $p=0,000(p<0,05)$ artinya ada perbedaan jumlah sel penghasil IFN γ . Uji Games-Howell untuk beda antar kelompok didapatkan ada perbedaan yang bermakna antara K dan P1; K dan P2; P1 dan P2.



Gambar 2 Mukosa usus halus dengan pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi monoklonal IFN γ pada kelompok yang mendapat bawang putih 20mg/kgBB. Tampak makrofag dan limfosit yang positif dengan sitoplasma berwarna coklat. (Perbesaran 400x)



Gambar 3 Pengambilan jaringan usus halus mencit

DISKUSI

Common cold adalah *self-limiting disease* dan sistem imun *host* adalah hal yang sangat menentukan pada penyakit ini. Respon imun humoral mulai menghasilkan antibodi spesifik dalam beberapa hari untuk mencegah virus menginfeksi sel. Leukosit tersebut juga membunuh virus melalui proses fagositosis dan membunuh sel yang terinfeksi untuk mencegah replikasi virus. Pada pasien dengan imunitas tubuh yang baik dapat sembuh sendiri dalam tujuh hari (Eccles, 2005).

Pada umumnya terapi *common cold* yang digunakan ialah *antihistamin*, *dekongestan*, *antipiretik*, dan *ekspektoran*. Antibiotik digunakan bila terjadi infeksi sekunder (Boies, 1994). Teknik lain yang perlu diberikan ialah dengan meningkatkan imunitas tubuh menggunakan obat *immunomodulator*, salah satunya ialah bawang putih (*Allium sativum* Linn.) (Marta, et al, 2007).

Ekstraksi bawang putih menghasilkan zat yang bersifat anti oksidan yang tidak stabil yaitu *allicin* dan juga zat yang stabil yaitu *S-allylcysteine* dan *S-allylmercaptocysteine*. Kedua komponen ini merupakan senyawa organosulfur (Borek, 2001). *S-allylcysteine* adalah *immunomodulator* yang efisien melalui stimulasi aktivitas makrofag dan produksi sitokin oleh makrofag (Kang, 2001).

Untuk membuktikan pengaruh bawang putih sebagai *immunomodulator*, maka dilakukan penelitian dengan menggunakan hewan coba yaitu mencit BALB/c jantan. Mencit dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok 1 (K) tidak diberi ekstrak bawang putih. Kelompok 2 (P1) diberi ekstrak bawang putih dengan dosis 10mg/kgBB (Yudha, 2003). Kelompok 3 (P2) diberi ekstrak bawang putih dengan dosis 20mg/kgBB. Mencit pada ketiga kelompok dikorbankan pada hari ke 14 untuk dilakukan pengamatan persentase jumlah sel penghasil IFN γ .

Penelitian ini menggunakan metode imunohistokimia *indirect* untuk deteksi adanya IFN γ pada mukosa usus halus mencit. Pada metode *indirect* ini antibodi sekunder yang dilabel enzim akan berikatan dengan antibodi primer yang telah berikatan dengan antigen. Untuk menandai adanya suatu reaksi enzimatik di dalam jaringan

maka digunakan indikator warna (*chromogen*) DAB (*3,3 diaminobenzidine*) yang akan memberikan warna coklat di antara sitoplasma sel normal yang terwarnai sesuai *counter stain haematoxylin*, dihitung dalam persen dan dibandingkan antar kelompok (Sudiana, 2008).

Hasil pewarnaan imunohistokimia pada penelitian ini menunjukkan data jumlah sel penghasil IFN γ masing-masing kelompok berdistribusi normal ($p > 0,05$) (Analisis dengan Kolmogorov-Smirnov satu sampel) , tetapi data tersebut memiliki nilai variansi yang tidak homogen antar kelompok (Levene test $p < 0,05$). Untuk itu analisis komparasi antar kelompok dilakukan dengan uji Brown-Forsythe. Uji beda antar kelompok menggunakan Games-Howell.

Berdasar hasil analisis data diatas didapat bahwa pemberian ekstrak bawang putih dapat meningkatkan jumlah sel penghasil IFN γ jaringan usus halus mencit. Hal ini disebabkan karena kandungan organosulfur dalam bawang putih yaitu *S-allylcysteine* (Kang, 2001).

S-allylcysteine merupakan protein asing yang dapat menstimuli makrofag. *S-allylcysteine* berikatan dengan reseptor pada permukaan sel makrofag. Kompleks ini akan mengambil molekul yang berisi *tumor necrosis factor receptor associated death domain* (TRADD) yang akan berinteraksi dengan *Serine-Threonine* kinase *ribosome inhibiting protein* (RIP) dan *tumor necrosis factor receptor associated factor 2* (TRAF2). Keduanya akan mengaktifkan *transforming growth factor beta activated kinase 1* (TAK1). TAK1 yang aktif berperan terhadap fosforilasi *inhibitor kinase kappa beta* (IK κ B). IK κ B menyebabkan degradasi *inhibitor kappa beta* (I κ B). Hambatan pada I κ B akan mengaktifkan *nuclear factor kappa beta* (NF κ B) sehingga terjadilah translokasi NF κ B aktif ke inti sel (George, 2002). Di inti NF κ B menstimuli proses transkripsi yang menghasilkan interferon gamma (IFN γ) dan *interleukin 12* (IL-12) (Neil, 1997). Berdasarkan penelitian ini dapat dibuktikan bahwa bawang putih dapat menstimuli makrofag untuk mengekspresikan NF κ B sehingga terjadi proses transkripsi dan menghasilkan IFN γ dan IL-12.

IFN- γ yang dihasilkan sel makrofag dapat meningkatkan aktivitas sel NK untuk membunuh sel yang mengandung virus dan membuat blokade reseptor pada sel tetangga sehingga sel tetangga kebal terhadap infeksi virus (Anthony, 2003).

Pemberian ekstrak umbi bawang putih pada mencit BALB/c jantan selama 14 hari dapat meningkatkan imunitas alami tubuh melalui peningkatan jumlah sel penghasil IFN γ .

PENUTUP

Pemberian ekstrak umbi bawang putih pada mencit BALB/c jantan dapat meningkatkan imunitas tubuh melalui peningkatan jumlah sel penghasil IFN γ .

Daftar Pustaka

- Abbas A.K, Andrew H.L, 1994. Cellular and Molecular Immunology. 2nd edition, USA: W.B. Saunders Company, 18, 53, 55, 262, 208-9, 251-2, 328.
- Anthony R.F, Wayne M.Y, 2003. Natural Killer Cells and Viral Infections. Current Opinion in Immunology 15: 45-51.
- Boies, Adams, Higler, 1994. Buku Ajar Penyakit THT (Boies Fundamentals of Otolaryngology). 1st edition, Jakarta:EGC, 206-208.
- Borek C, 2001. Antioxidant Health Effect of Aged Garlic Extract. Journal of Nutrition American Society for Nutritional Sciences 131: 1010s-1015s.
- Diah K, 2004. Bersahabat Dengan Hewan Coba. Cetakan I, Yogyakarta:Gadjah Mada University Press, 5-8, 25-37, 66-69, 82-112.
- Eccles R, 2005. Understanding The Symptoms of The Common Cold and Influenza. Lancet Infect Diseases 5:718-25.
- Eikai K, Naoto U, 2001. Immunomodulatory Effects of Aged Garlic Extract. Journal of Nutrition 131: 1075-1079.
- Eko B, 2002. Biostatistika. Cetakan I, Jakarta:EGC, 226-232.
- Federer, 1955. Experimental Design, Theory and Application. 2nd edition, New York Macmillan.
- George S, 2002. NF κ B-Dependent Signaling Pathways. Experimental Hematology 30: 285-296.
- Hildebert W, 1999. Immunomodulatory Agents from Plants. Medical :274-277.
- Hirao Y, 1987. Activation of Immoresponder Cells by The Protein Fraction from Aged Garlic Extract. Phytotherapy 1:161-164.
- John D.B, Harry C.C, 1984. Manual of Histological Techniques. New York:Churcill livingstone Inc, 12-25,195-202.
- Kang N.S, Moon E.Y, 2001. Immunomodulating Effect of Garlic Component, Allicin, on Murine Peritoneal Macrophages. Nutrition Research 21: 617-626.

- Liang H.O, Purwanto A, 1991. Uji Toksisitas dan Aktivitas Biologi Ekstrak Bawang Putih. *Cermin Dunia Kedokteran* 73, 28.
- Luna L.G, 1968. *Manual of Histologic Staining Methods of The Armed Forces Institute of Pathology*. 3rdedition,USA:Mc.Graw Hill Book Company,1-32.
- Marta CM, Nieves C, Mar V, 2007. Biological Properties of Onions and Garlic. *Food Science and Technology* 18: 609-625.
- Marcel V, 2009. Moral Principles for Allocating Scarce Medical Resources in an Influenza Pandemic. *Bioethical Inquiry* 6:159-169.
- Neil P,1997. Achieving Transcriptional Specificity with NFκB. *Int.J.Biochem. Cell Biology* 29: 1433-1448.
- Schoenborn J.R, Wilson C.B, 2007. Regulation of Interferon Gamma During Innate and Adaptive Immune Responses, *Immunol* 96:41-101.
- Schroeder K, Hertzog PJ, Ravasi T, 2004. Interferon Gamma: an Overview of Signals, Mechanisms and Functions, *J Leukoc.Biol* 75: 163-89.
- Steel R.G.D., Torrie J.H, 1984. *Principles and Procedures of Statistics*. Singapore: McGraw Hill Book Co., Inc., 172-177.
- Steven E,MD, 2009.Common Cold. <http://www.medicineNet.com/>
- Sudiana IK, 2008. *Patobiologi Molekuler Kanker*. Jakarta: Salemba Medika, 61-88.
- Sudiana IK, 2005. *Teknologi Ilmu Jaringan dan Imunohistokimia*. Jakarta: Sagung Seto, 1-46.
- Tzou-C.H, 2009. Diallyl Disulphide, but not Diallyl Sulphide, Increases Leucocyte Function-Associated Antigen-1 Expression and Cellular Adhesion in Monocytes. *Food Chemistry* 1-14.
- Yudha, JS, 2003. The Role of Garlic (*Allium Sativum*) Antioxidant as Hepatoprotektor. *Jurnal Universitas Airlangga*. 4(1):24-31.