

## RINGKASAN

**UJI IMUNOSTIMULAN ANDROGRAFOLIDA TERHADAP SEKRESI IFN- $\gamma$   
DAN TNF- $\alpha$  OLEH SUB SET LIMFOSIT T HELPER-1 (TH1) MENCIT  
DALAM PERCOBAAN KULTUR SEL**

Aty Widyawaruyanti<sup>1</sup>, Wahjo Dyatmiko<sup>1</sup>, Suprpto Ma'at<sup>2</sup>  
(1999, 40 hal.)

<sup>1</sup>) Fakultas Farmasi Unair, <sup>2</sup>) Instalasi Patologi Klinik FK Unair

Malaria merupakan salah satu penyakit tropis utama di seluruh dunia. Penanggulangan penyakit malaria telah banyak dilakukan baik terhadap vektor nyamuk maupun penggunaan kemoterapi. Problem utama yang dihadapi adalah munculnya resistensi parasit terhadap kemoterapi maupun resistensi vektor terhadap insektisida. Oleh karena itu perlu dicari alternatif lain dalam penanggulangan penyakit ini. Disamping penemuan kemoterapi baru dan pengembangan vaksin, cara lain yang dapat dilakukan dalam penanggulangan malaria yaitu dengan mengembangkan konsep pengobatan imunoterapi baik senyawa sintesis maupun bahan alam (dari tanaman) yang dapat meningkatkan kekebalan tubuh terhadap infeksi malaria.

Respons imun yang berperan dalam infeksi malaria dapat berupa respons imun seluler maupun humoral. Disamping antibodi, limfosit T yang teraktivasi memegang peranan penting dalam infeksi sporozoit intraseluler. Adanya infeksi sporozoit akan merangsang sub set sel T *helper* dalam hal ini T *helper* 1 (TH1) untuk mensekresi limfokin yaitu IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$ . Sekresi kedua limfokin ini akan mengaktivasi makrofag, dimana makrofag akan menghasilkan nitrogen oksida dan senyawa lain untuk membunuh parasit. Peningkatan sekresi IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$  oleh aktivasi makrofag dapat meningkatkan reaksi pertahanan tubuh terhadap malaria terutama terhadap sporozoit pada fase ekstra eritrosit (intraseluler).

*Andrographis paniculata* Nees yang dikenal dengan nama daerah sambiloto sering digunakan secara tradisional untuk mengobati berbagai penyakit, diantaranya untuk mengobati penyakit malaria. Beberapa penelitian

melaporkan bahwa andrografolida, suatu diterpen yang diisolasi dari tanaman ini mempunyai efek sebagai imunomodulator. Oleh karena itu dalam rangka mencari obat antimalaria baru, perlu diuji kembali apakah senyawa ini juga dapat meningkatkan aktivasi sel limfosit T *helper* dalam mensekresi IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$ . Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa andrografolida dari *A. paniculata* dan menguji pengaruhnya terhadap sekresi IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$  oleh subset *Thelper* (TH1).

Isolasi senyawa andrografolida dilakukan dengan cara mengekstraksi herba kering *A. paniculata* dengan metanol pada suhu 60°C, kemudian mengocoknya dengan pelarut etil asetat-air 1:1. Isolat yang diperoleh kemudian diidentifikasi dengan KLT dan FT/IR.

Pengujian sekresi dilakukan dengan metode MLR (*Mixed Lymphocyte Responses*), dimana sel limfosit dari mencit galur *BALB/C* dikultur bersama dengan sel limfosit yang diisolasi dari mencit galur *Quacker Bush* (sel APC) yang sebelumnya diinaktivasi dengan mitomisin C.

Hasil isolasi dari herba *A. paniculata* diperoleh kristal jarum (A1) berwarna putih. Kromatogram hasil KLT menunjukkan isolat (A1) merupakan senyawa golongan terpenoid dengan  $R_f = 0,1646$  sama dengan harga  $R_f$  dari standar andrografolida yang digunakan (BM: 350,5; Sigma, No. katalog 36,564-5). Data spektra infra merah (FT/IR) menunjukkan bilangan gelombang untuk (A1) adalah : 3398, 1728, 1674, 906  $\text{cm}^{-1}$ . Setelah dibandingkan dengan spektra infra merah (FT/IR) andrografolida standar, maka (A1) identik dengan senyawa andrografolida.

Anava dari hasil pengukuran sekresi IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$  oleh subset limfosit *Thelper-1* (TH1) menunjukkan bahwa isolat A1 (andrografolid) dapat meningkatkan sekresi IFN- $\gamma$  yang bermakna ( $p < 0,05$ ) pada konsentrasi 10 dan 1  $\mu\text{g/ml}$  dibandingkan dengan kontrol. Sebaliknya isolat A1 dapat menekan (menghambat) sekresi TNF- $\alpha$  yang bermakna ( $p < 0,05$ ) pada konsentrasi 10; 1 dan 0,1  $\mu\text{g/ml}$  dibandingkan dengan kontrol maupun konsentrasi 0,01  $\mu\text{g/ml}$ .

Dari penelitian ini dapat dilaporkan bahwa penambahan isolat A1 ke dalam kultur sel limfosit dapat mempengaruhi aktivitas subset limfosit *Thelper-1* (TH1) mencit dalam mensekresi limfokin terutama IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$ . Isolat A1 bersifat imunostimulan terhadap sekresi IFN- $\gamma$  dan sebaliknya bersifat immunosupresan terhadap sekresi TNF- $\alpha$ .

( L.P. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga;  
No. 17B/PPIPD/DPPM/V/1998, tanggal 20 Mei 1998 )



## SUMMARY

IMMUNOSTIMULANT ASSAY OF ANDROGRAPHOLIDE ON IFN- $\gamma$  AND  
TNF- $\alpha$  SECRETION BY MICE HELPER-1 T LYMPHOCYTE  
(TH1) SUB SET IN CELL CULTURE

Aty Widyawaruyanti<sup>1</sup>, Wahjo Dyatmiko<sup>1</sup>, Suprpto Ma'at<sup>2</sup>  
(1999, 40 pages.)

<sup>1</sup>) Faculty of Pharmacy, Airlangga University

<sup>2</sup>) Laboratory of Pathology Clinic, Faculty of Medicine, Airlangga University

Malaria is the world's most important tropical disease. Attempt to eradicate malaria have been done both against the mosquitos as vector and use of chemoterapeutical agents to cure the disease. The main problem is the evidance of parasites that resistance to chemoteraupetical agents and the resistance of the vector against insecticide. Hence it is need to find other alternative to over come the disease. Besides the finding of the new chemoterapeutical agents and vaccin development, other method to over come the malaria is to develop immunoterapeutic concept using both synthetic compound and natural product (especially from plant) that could enhance immunity against malaria infection.

Immunity to malaria requires both cell-mediated and humoral response immune. Besides the antibody, activated T lymphocyte play important role in intracellulair sporozoits infection. The presence of sporozoits infection will stimulate subset of helper T lymphocyte (CD4<sup>+</sup>) especially helper T-1 to secrete IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  lymphokine. Secretion of these lymphokine will activate the macrophage to produce nitrous oxide and other coumpund to kill the parasites and infected cells. The increase of IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  secretion will increase the macrophage activation, hence will increase immunity againts malaria, especially againts sporozoits on extra-erythrocytes phase.

*Andrographis paniculata* (sambiloto), has been used in traditional medicine against malaria. Some of researcher reported that andrographolide

secretion of IFN- $\gamma$  and on the contrary showed immunosuppression activity on the secretion of TNF- $\alpha$ .

---

(LP Universitas Airlangga : 06/IPD/98)

( Rest. Rest. Faculty of Pharmacy Airlangga University;  
No. 17B/PPIP/DPPM/V/1998, date May 20, 1998 )

