

POTENSI IMMUNODULATOR EKSTRAK CENGKEH PADA KADAR LIMFOSIT DAN MAKROFAG SEBAGAI MEKANISME PERTAHANAN TUBUH

Muhammad Faris¹

¹Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia
Yogyakarta

ABSTRAK

Latar Belakang : Cengkeh merupakan tanaman rempah asli dari Indonesia. Tanaman ini digunakan sebagai obat tradisional berbagai penyakit karena senyawa yang terkandung memiliki sifat sebagai anti inflamasi, antimikroba dan antioksidan pada berbagai sistem tubuh, salah satunya adalah sistem imun. Limfosit dan makrofag merupakan komponen penting dalam mekanisme pertahanan tubuh. Makrofag berperan dalam pertahanan pertama dan limfosit sebagai pertahanan berikutnya. Kedua sel ini saling berhubungan dan berkomunikasi melalui sitokin sehingga patogen didalam tubuh dapat dieliminasi.

Tujuan : Studi ini bertujuan mengkaji efek ekstrak terhadap sel limfosit dan makrofag sebagai mekanisme pertahanan.

Metode : Berbagai literatur fulltext berbahasa Inggris dan Indonesia dengan rentang tahun 2006-2019 digunakan sebagai referensi penulisan artikel. Literatur didapatkan dari alat pencarian pubmed dan google scholar dengan kata kunci "clove", "lymphocytes", "macrophage", dan "immunodulator"

Pembahasan : Studi literature menunjukkan bahwa ekstrak cengkeh memiliki efek immunodulator dengan *dose dependent*. Ketika dosis kecil diberikan (<1µg/mL) terjadi penurunan oksidan NO dan iNOS oleh makrofag yang teraktivasi oleh LPS. Sedangkan dosis tinggi (100-1000µg/mL) menunjukkan peningkatan marker inflamasi pada makrofag tak teraktivasi.

Kesimpulan : Ekstrak cengkeh memiliki efek immunodulator pada kadar limfosit dan makrofag sesuai dengan keadaan tubuh.

Kata kunci : Eugenol, Limfosit, Makrofag, Respon Imun

ABSTRACT

Background : Eugenol is the main ingredient of clove. This plant is used as a traditional medicine for various diseases, related to the properties of compounds as anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant in various body systems, one of which is the immune system. Lymphocytes and macrophages are important components in body defense mechanism. Macrophages play as first defense mechanism and lymphocytes as the next defense. These cells are connected and communicate via cytokin so patogen in body can be eliminated.

Aim : This study to examine the effect of the extract on lymphocytes and macrophages as a defense mechanism.

Method : Various fulltext literature in English and Indonesian from 2006-2019 is used as reference. Literature were obtained from pubmed and google scholar search tools with keywords "clove" "lymphocytes" "macrophage" "immunodulator"

Discussion : Literature studies show that clove extract has a dose dependent immunodulatory effect. When small doses were given (<1 µg / mL) there was a decrease in NO and iNOS oxidants by LPS-activated macrophages. Meanwhile, high doses (100-1000 µg / mL) showed an increase in inflammatory markers in inactivated macrophages.

Conclusion : Clove extract has an immunodulatory effect on the levels of lymphocytes and macrophages according to body conditions.

Keywords: *Eugenol, Lymphocytes, Macrophages, immune response*

1. PENDAHULUAN

Cengkeh merupakan salah satu rempah yang berasal dari Maluku, Indonesia¹ Tanaman ini tergolong dalam keluarga *Myrtaceae* dan ordo *Myrtales* yang merupakan tanaman herbal dan banyak digunakan di Timur Tengah dan Asia sejak lama. Cengkeh juga digunakan dalam bidang kuliner sebagai penambah aroma dan rasa pada makanan serta pemberi wangi tambahan pada industri sabun, pasta gigi dan parfum² Selain itu, cengkeh juga dikenal dapat menyembuhkan beberapa penyakit, seperti sakit gigi, gejala pernafasan, pusing dan sakit kepala serta radang tenggorokan sebagai obat tradisional di Australia dan beberapa negara Asia³. Hal ini terkait dengan cengkeh yang memiliki khasiat sebagai antiinflamasi,³ anti mikroba, anti fungal dan anti viral³.

Cengkeh memiliki aroma khas karena senyawa utamanya yaitu eugenol⁴. Eugenol adalah senyawa bioaktif terbesar yang ada pada cengkeh dengan konsentrasi 9381,7 hingga 14650 mg/100gram cengkeh segar¹ atau sebesar 50-87% kandungan senyawa³. Salah satu metode mendapatkan senyawa eugenol adalah dengan mengekstraksi cengkeh menjadi minyak atsiri². Minyak atsiri adalah campuran kompleks dari metabolisme sekunder senyawa teruap yang diisolasi dari tanaman dengan cara distilasi. Minyak atsiri ini memiliki sifat biologis dan wangi yang cocok sebagai tanaman penambah aroma dan pengobatan⁵. Bagian cengkeh yang dapat menghasilkan minyak atsiri adalah bunga, tangkai dan daun cengkeh. Kandungan minyak atsiri dalam bunga mencapai 21,3 % dengan kadar 78-95%, dari tangkai mencapai 6% dengan kadar 89-95% dan dari daun mencapai 2-3% dengan kadar eugenol 80-85%.² Kadar ekstraksi eugenol juga bergantung dari metode dan bahan yang digunakan. Ekstraksi menggunakan pelarut alkohol menghasilkan 74% eugenol dan 43% pada pelarut berbahan air³ Senyawa lain yang terkandung dalam cengkeh adalah Eugenil asetat (16%), tanen,

timol dan b-karyofilen (5%)⁵. Senyawa-senyawa tersebut dapat memodulasi reaksi-reaksi yang terjadi dalam tubuh, salah satunya respon imun, walaupun mekasimenya masih belum jelas.³

Manusia memiliki mekanisme pelindung dari berbagai organisme yang dapat mengganggu keseimbangan tubuh. Mekanisme ini memiliki kemampuan untuk membunuh mikroba, senyawa toksik, dan alergen yang merusak jaringan tubuh. Mekanisme ini merupakan pertahanan tubuh yang disebut sistem imun⁶. Pertahanan tubuh dilakukan oleh sistem imun innate dan adaptif, termasuk didalamnya adalah sel limfosit dan makrofag. Senyawa eugenol didalam cengkeh memiliki kemampuan untuk meningkatkan respon antibodi humoral dan imunitas selular pada sel imfosit dan makrofag. Dalam studi penelitian menggunakan sheep red blood cell (SRBC) sebagai antigen menunjukkan eugenol mampu menebalkan tes tempel kulit (skin patch test) sebagai induksi respon imun⁵. Pada lain studi menyebutkan bahwa methyl-eugenol yaitu senyawa turunan eugenol memiliki efek menurunkan imunitas selular dengan menurunkan sitokin pro-inflamasi yaitu IL-17 dan IFN- γ sehingga menurunkan aktivitas makrofag agar tidak berlebih dan merusak jaringan tubuh.⁷

Penting untuk melakukan pembuktian ilmiah terkait tanaman herbal untuk kebutuhan dunia medis terutama yang berperan pada sistem imun karena obat kimia saat ini banyak yang menimbulkan resistensi, dan efek samping, misalnya alergi, hipersensitivitas dan immunosupresi⁵. Salah satu kelebihan penggunaan minyak atsiri dibandingkan obat kimia adalah dapat digunakan di banyak makanan dan aman selama efek maksimum nya dicapai dengan sedikit perubahan pada sifat organoleptik makanan⁵. Menurut penelitian Weihua, 2006 eugenol memiliki nilai toksisitas rendah pada makrofag dengan menggunakan Mikrotetrazoulium (MTT) assay saat dipaparkan selama 24 jam⁸. Studi ini dilakukan untuk mengkaji manfaat cengkeh sebagai

immunodulator pada makrofag dan limfosit dari berbagai literatur.

2. METODE

Naskah ini menggunakan metode studi pustaka. Sumber yang digunakan secara komprehensif dilakukan pada bulan Agustus-September 2020 dengan menggunakan pencarian Google Scholar dan Pubmed. Pencarian literature menggunakan kombinasi kata kunci "clove", "imun response", dan "immunodulator/immunodulation". Referensi yang digunakan berupa fulltext bahasa Inggris dan Indonesia yang dipublikasikan antara tahun 2006-

3. PEMBAHASAN

3.1 Sistem Imun

Pertahanan tubuh manusia terbagi menjadi dua lini, imunitas alami (*innate/independent*) dan imunitas adaptif (*dependent*)⁹. Sistem imun alami meliputi semua pertahanan tubuh yang dikode oleh gen germline dalam bentuk matur, seperti sel epitel, lapisan mucus dan silia⁶. Protein dan molekul bioaktif, seperti protein komplemen, *defensin* sitokin, kemokin, lipid mediator inflamasi, *Reactive Oksigen Species (ROS)*⁹ yang memanggil dan menginduksi terjadinya inflamasi termasuk dalam kategori sistem imun alami. Semua ini adalah lapisan pertama tubuh untuk melawan pathogen dari luar⁶.

Sistem imun adaptif adalah lini selanjutnya yang berperan setelah beberapa hari pathogen masuk. Lini ini diperankan oleh limfosit T, limfosit B, sel NK⁹ dan sel NK-T⁶. Respon imun bersifat *antigen dependent* dan memiliki memori sehingga tubuh bereaksi lebih cepat dan lebih efisien saat terpapar ulang dengan antigen yang sama⁹. Hal ini disebabkan oleh reseptor yang diekspresikan pada permukaan sel limfosit dikode oleh gen yang dikumpulkan oleh gen germline yang melakukan pengaturan ulang secara somatik untuk membentuk reseptor yang utuh pada sel limfosit T, *T cell receptor (TCR)* dan limfosit B, gen immunoglobulin atau *B cell reseptor antigen*⁶. Kedua sistem imun tersebut bekerja bersama-sama dimana sistem imun *innate* berkontribusi dalam pemanggilan sistem imun adaptif dan sistem imun adaptif memperbesar

responnya dengan merekrut sistem imun alami untuk menghancurkan pathogen.

3.2 Limfosit B

Secara umum limfosit B dikenal sebagai sel plasma dan penghasil antibodi. Sel ini merupakan komponen humoral sistem imun dan berperan sebagai *antigen presenting cell (APC)* kepada sel T. Selain itu, sel ini juga mensekresi sitokin yang bertindak memacu respon imun⁹. Terdapat beberapa jenis sel B yang memiliki peran berbeda pada sistem imun alami dan adaptif.

Sel B1 merupakan produsen utama antibodi alami yang terletak di rongga peritoneum dan pleura.⁹ Sel ini merupakan pertahanan awal pada mukosa terhadap pathogen karena memiliki reseptor yang polispesifik sehingga mampu berikatan dengan *self-antigen* seperti lipid teroksidasi dan antigen yang dikeluarkan oleh sel apoptotik. Sel B1 memiliki kemampuan khusus berproliferasi yang tidak ada pada jenis sel B lainnya. Meskipun begitu, sel ini cenderung membatasi proliferasi untuk menggantikan sel mati dan cenderung mempertahankan populasinya agar stabil demi menjaga homeostasis jaringan⁹. Sel B1 terbagi lagi menjadi dua, yaitu B-1a dan B-1b. Subtipe B-1a memproduksi antibody alami sebagai bagian dari sistem imun alami dan B-1b memiliki target dengan antigen polisakarida dan antigen lain yang tidak berinteraksi dengan sel T⁹. Sel B2 atau folikuler¹⁰ merupakan sel yang umum berada pada organ limfoid.. Sel ini bertugas mengeluarkan antibody dengan afinitas tinggi saat terjadi infeksi sehingga sel B2 sering disebut sel antibody konvensional atau sel limfosit B⁹.

3.2.1 Perkembangan Limfosit B

Limfosit B berkembang dari *pluripotent hematopoietic stem cell* di sum-sum tulang kemudian menjadi multipotent progenitor cell yang dapat menjadi lini limfoid atau lini myeloid⁹. Sel progenitor akan mengekspresikan reseptor permukaan tirosin kinase FTL3 yang berikatan dengan permukaan sel stroma sumsum tulang belakang. FTL3 berperan dalam menentukan arah perkembangan diferensiasi dari sel progenitor menjadi progenitor sel limfosit

atau common lymphoid progenitor cell (CLP). Common lymphoid progenitor cell dapat berkembang menjadi sel limfosit, T, sel limfosit B dan sel dendritik. Interleukin 7 dan Lin stem cell antigen pada CLP berperan dalam proliferasi sel pro B⁹. Reseptor sel B memiliki dua rantai yaitu rantai H (heavy chain) dan rantai L (light chain) yang memiliki berbagai lokus gen. Immunoglobulin lengkap memiliki 2 rantai H dan 2 rantai L¹⁰. Pada tahap awal sel B membutuhkan rekombinasi dari lokus gen V,D,J di rantai H dan lokus gen V,J di rantai L. Rekombinasi gen tersebut membuat kumpulan sel B memproduksi antibody yang dapat mengenali lebih dari 5 x 10¹³ jenis antigen berbeda¹¹. Terdapat tiga tahap perkembangan sel limfosit B berdasarkan rekombinasi pembentuk rantai L dan H. Pertama sel pro B merekombinasi segmen gen D dan J pada rantai H. Kedua, rekombinasi pada segmen V dan penggabungan segmen V dan DJ¹².

Perkembangan sel B diregulasi oleh SLC (surrogate L chain) yang terdiri dari protein $\lambda 5$ dan Vpre B. Kedua protein akan berikatan dengan protein μ pada rantai H membentuk pre BCR. Prekursor sel B atau pre B dibentuk dari pro sel B yang mengekspresikan pre BCR¹². Apabila reseptor pre BCR tidak muncul karena kesalahan rekombinasi gen maka perkembangan limfosit B berhenti dan terjadi apoptosis. Bila berhasil akan menghasilkan RAG1/2 dan terjadi rekombinasi pada rantai L. Setelah rekombinasi rantai H dan L, terbentuk reseptor IgM pada permukaan sel B imatur. Sel imatur ini dapat meninggalkan sumsum tulang belakang dan bermigrasi ke spleen dan berdiferensiasi menjadi sel B naïve, folikuler atau marginal zone (MZ). Sel B imatur akan diuji tubuh apakah menyebabkan autoreaktivitas atau tidak. Apabila BCR dapat berikatan dengan antigen tubuh akan terjadi apoptosis atau rekombinasi ulang pada rantai L oleh RAG1⁹.

Sel B imatur belum memiliki reseptor imunoglobulin lain selain IgM. Sel ini akan menjadi sel transisi T1 dan T2 yang memiliki IgG. Selanjutnya, sel T2 dapat keluar dari sumsum tulang, beredar ke sirkulasi darah dan masuk ke limfonodi atau limpa. Disini sel B matur

sudah bisa berinteraksi dengan antigen yang masuk¹³.

Sel B dapat teraktivasi setelah berikatan dengan sel dendritik atau pada sel T. Sel B berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma atau menetap di germinal center (GC) di kelenjar getah bening atau limfonodi. Sel plasma dapat keluar dari folikel dan pindah ke *corda medulla* limfonodi. Sel ini dapat menghasilkan IgM selama 4 hari. Sel yang menetap di GC akan mengalami proses *somatic hypermutation* (SHM) dan seleksi klonal untuk membentuk imunitas humoral. Proses SHM berperan dalam pembentukan kelas antibody atau *class switching*. Proses ini bergantung pada antigen yang terikat pada sel T dan sitokin diantaranya sitokin IL-4 untuk membentuk IgG1 dan IgE, sitokin TGF- β untuk membentuk Ig A dan IFN- γ untuk membentuk IgG3 dan IgG2a.

3.3 Limfosit T

Sel ini berperan dalam respon imun sitotoksik dan berfungsi meregulasi sistem imun, mekanisme peradangan dan respon protektif⁹. Sel T dapat ditemukan dalam darah dan pembuluh limfe, yaitu cairan tak berwarna yang menghubungkan nodus limfatikus di tubuh satu sama lain melalui aliran darah. Selain itu, limfosit T juga dapat ditemukan pada organ limfoid sekunder, seperti timus, nodus limfatikus, spleen dan apendiks¹².

Sel limfosit dapat dibedakan menurut reseptor yang diekspresikan⁶. Pertama, limfosit T memiliki reseptor $\alpha\beta$ untuk membentuk sel T $\alpha\beta$ yang terlibat dalam sistem imun adaptif⁹. Sel T $\alpha\beta$ berdiferensiasi membentuk beberapa subtype sel T, yaitu sel T CD8 yang berperan dalam membunuh sel yang terinfeksi dengan mikroba intrasel dan sel T CD4 yang berperan dalam meregulasi sistem imun humoral dan selular. Ada pula beberapa subtype yang sedikit diekspresikan oleh sel T $\alpha\beta$ yaitu sel NK-T yang mengekspresikan antigen sel NK NK1.1 (CD161) (15). Kedua, limfosit T yang hanya ada pada ruminansia dan memiliki reseptor gamma delta ($\gamma\delta$). Reseptor sel ini dipercaya berperan dalam sistem imun *innate*⁹

3.3.1 Perkembangan Limfosit T

Perkembangan limfosit T mirip dengan limfosit B, hanya berbeda di tempat produksi dan perkembangannya. Proses tersebut meliputi, pembentukan rantai fungsional pada rantai α dan rantai β , seleksi positif yang melibatkan produksi sinyal oleh precursor ganda positif yang mengekspresikan reseptor Major Histocompatibility kelas I dan II (MHC I dan MHC II) dan seleksi negatif melibatkan penghilangan thymocytes yang memicu autoimun³

Reseptor pada setiap sel T memiliki spesifitas tunggal. Perangkaian reseptor dilakukan secara somatik dari kumpulan elemen gen yang berbeda-beda dan bermacam-macam variable untuk membentuk rantai V α J α dan V β D β J β matur. Pengumpulan ini diawali dengan protein RAG1 dan RAG2 yang memotong DNA dekat segmen V,D dan J dan segmen gen digabungkan oleh enzim DNA-dependent protein kinase(DNA-PK), Ku, XRCC4,XLF,DNA ligase IV dan artemis nuclease. Enzim XRCC4, XLF dan DNA-PK membantu memanggil enzim terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) yang menambahkan deoxynucleotida pada beberapa persimpangan dari segmen V,D,J sehingga menambahkan persimpangan ekstra kepada urutan rekombinasi gen. Tindakan ini dimaksudkan agar elemen gen pada segmen gen V, D, J berkumpul secara acak dan menghasilkan urutan reseptor yang sangat berbeda,, mengingat reseptor sel T hanya dapat untuk berinteraksi dengan satu antigen saja⁶

Pemilihan sel yang membawa TCR fungsional terjadi di timus. Terdapat tiga kompartemen yang berfungsi pada perkembangan sel T. Pertama zona subscapular dimana pro thymocytes mulai melakukan pembedaan, proliferasi dan penyusunan rantai TCR β . Kedua, korteks timus dimana rantai α disusun ulang untuk membentuk TCR $\alpha\beta$ matur¹⁰. Dilakukan juga tes untuk mengetahui afinitas ikatan yang dimiliki reseptor apakah cukup atau tidak dengan molekul self-MHC untuk mengetahui kekuatan pengenalan pada antigen kompleks MHC. Apabila limfosit gagal dalam tes ini maka terjadi apoptosis dan dieliminasi oleh makrofag.

Zona medulla digunakan untuk melakukan skrining kemungkinan sifat autoreaktif. Pengujian ini berupa tes reaktivitas dari berbagai protein spesifik jaringan yang diekspresikan oleh sel epitelian medulla timus dibawah kendali autoimmune regulator (AIRE). Sel yang mengenali peptide tubuh sendiri akan dieliminasi melalui apoptosis dan sisanya akan pergi ke sirkulasi. Proses ini dinamakan seleksi negative⁹.

Sebanyak 90-95% dari sel T yang bersirkulasi dalam tubuh adalah TCR $\alpha\beta$ dan sisanya adalah heterodimer TCR yang terdiri dari rantai γ dan δ . Kedua rantai ini juga disatukan oleh RAG 1 dan RAG2 dengan elemen V, D (untuk δ) dan J.

3.4 Makrofag

Makrofag merupakan bentuk matur dari monosit dan berperan pada imunitas innate dan adaptif untuk memfagosit patogen. Sel ini ditemukan secara normal tersebar di berbagai jaringan tubuh, misalnya pari (makrofag alveolar), jaringan hati (sel Kupfer), sendi (sel synovial tiperA), sistem saraf pusat (sel Schwann), jaringan pengikat (histiosit) dan makrofag bebas.¹⁰ Sel ini merupakan pertahanan pertama bersama dengan neutrophil pada sistem imun innate terhadap mikroorganisme dan pengontrolan infeksi bakteri. Mikroorganisme yang berpenetrasi ke permukaan epitel tubuh, akan dikenali reseptor permukaan tubuh sehingga memicu makrofag menelan bakteri dan sekresi sitokin. Peran ini penting pada imunitas innate untuk selanjutnya disajikan kepada sel limfosit T dan pembentukan antibodi¹². Peran ini disebut sebagai *Antigen Presenting Cell*. Proses ini diperlukan pada inisiasi sistem imun adaptif. Sitokin yang dikeluarkan makrofag akan memicu terjadinya proses inflamasi. Beberapa sitokin yang dikeluarkan makrofag adalah IL-1, IL-6, IL-12, TNF-a dan IL-8, IL-10(9),IL-13 IL-18, IFN γ , TGF β (11) dan NO(12) Semakin tinggi aktivitas makrofag, semakin tinggi juga kadar sitokin atau mediator proinflamasi yang dikeluarkan¹⁰. IL-6 merangsang sel makrofag muda menjadi matang dan sel makrofag matang mampu melakukan fagositosis dengan lebih efisien¹². IL-6 juga menginduksi diferensiasi sel B

menjadi sel plasma dan menghasilkan immunoglobulin.

3.4 Sitokin pro inflamasi

Sitokin adalah protein kecil yang disekresikan oleh sel untuk berinteraksi dan berkomunikasi antar sel. Sitokin ini terbagi menjadi beberapa jenis bergantung pada sel yang mengeluarkannya. Sitokin yang dikeluarkan oleh monosit atau makrofag disebut monokine, kemokin adalah sitokin dengan aktivitas kemotatik, interleukin adalah sitokin yang dikeluarkan leukosit untuk berinteraksi dengan leukosit lainnya. Sitokin dapat bekerja dengan berbagai cara, misalnya bekerja untuk diri sendiri (autokrin), bekerja untuk sel disekitarnya (parakrin), atau bisa bekerja untuk sel yang jauh (endokrin)¹⁴.

Sitokin pro inflamasi diproduksi oleh makrofag yang teraktivasi dan berperan dalam up-regulasi reaksi inflamasi. Beberapa contoh sitokin proinflamasi adalah IL-1 β , IL-6, IL-10 dan TNF- α . Interleukin 1 β diproduksi utamanya oleh makrofag dan monosit⁽¹⁶⁾. Interleukin-6 merupakan mediator dengan efek pleotropik pada inflamasi, respon imun dan hematopoiesis. Interleukin ini berperan dalam respon imun dengan meningkatkan stimulasi pembentukan dan produksi antibody serta perkembangan efektor sel T⁷. Interleukin 6 memacu diferensiasi dari sel T CD4 naïve yang berfungsi sebagai jembatan respon imun *innate* dan adaptif. Efek lainnya adalah mendorong sel Th untuk berdiferensiasi dan memproduksi IL-21 yang mengatur sintesis immunoglobulin. Diferensiasi sel T CD8 berkembang menjadi sel T sitotoksik juga merupakan efek IL-6.⁷ Interleukin 1 adalah regulator inflamasi utama dengan mengontrol berbagai proses imun *innate*. Berperan dalam induksi beberapa komponen pada respon akut dan *lymphocyte activating factor* (LAF) dimana berfungsi dalam mediator imun turunan makrofag yang memiliki target aksi sel B dan sel T.

3.5 Cengkeh sebagai Immunodulator

Pembuatan minyak atsiri cengkeh dapat dilakukan dengan metode distilasi uap dan pelarut. Konsentrasi minyak atsiri dipengaruhi oleh faktor pelarut. Pada pelarut heksana didapatkan

rendeman minyak sebesar 17,61% dan kadar eugenol 65,02%. Pada pelarut benzene didapatkan rendeman 18,90% dan kadar eugenol 8,81%². Pada pelarut alkohol didapatkan eugenol sebesar 74% dan 43 % pada pelarut air³. Bagian cengkeh yang dapat menghasilkan minyak atsiri adalah bunga, batang, dan daun. Kandungan minyak atsiri dalam bunga mencapai 21,3 % dengan kadar 78-95%, dari tangkai mencapai 6% dengan kadar 89-95% dan dari daun mencapai 2-3% dengan kadar eugenol 80-85%.²

Pada studi sebelumnya³ cengkeh memiliki sifat sitotoksik seperti halnya sel limfosit T CD8 pada konsentrasi yang tinggi (100-1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Hal ini disebabkan oleh kadar antioksidan yang tinggi pada cengkeh, seperti flavonoid, eugenol (70-80%), eugenol asetat, dan timol.³ Eugenol memengaruhi produksi NO dan ekspresi iNOS bergantung pada dosis pemberian. Pada subyek yang diberi stimulasi dengan Lipopolisakarida (LPS), produksi NO dan iNOS mengalami penurunan sehingga inflamasi dapat ditekan. Hasil ini sama dengan penelitian Weihua yang menyebutkan eugenol dan isoeugenol (analog eugenol) dapat menghambat sel makrofag yang distimulasi oleh LPS dalam memproduksi NO melalui mekanisme inhibitor sintesis protein dari NO *synthase*. Hal ini membuktikan bahwa eugenol memiliki efek antiinflamasi dengan menghambat produksi NO dan ekspresi Cox-2¹⁵. Efek kontras pada makrofag yang tidak distimulasi dengan LPS menunjukkan NO dan iNOS mengalami stimulasi pada dosis rendah (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Ketika dosis dinaikkan, efek antiinflamasi mulai menghilang dan sel makrofag mulai terinhibisi pada perlakuan sel yang distimulasi oleh LPS. Fenomena ini juga terjadi pada *reaktive oksigen species* (ROS) yang diberi dosis kecil eugenol. Kadar TNF α mengalami penurunan dengan ekstrak cengkeh oleh makrofag teraktivasi LPS. Hasil penelitian diatas sedikit berbeda dimana ekstrak cengkeh dapat mendorong toleransi stress oksidatif pada ragi *S.pombe* tidak bergantung dosis dengan dosis optimum 100ppm menunjukkan efek baik pada viabilitas sel dalam kondisi stress oksidatif⁸.

Sekresi sitokin makrofag menunjukkan hasil tidak konsisten. Secara umum hasilnya menunjukkan ekstrak cengkeh pelarut alkohol (kaya akan eugenol) mensupresi $TNF\alpha$, sedikit efek pada IL-12 dan stimulasi pada IL-6 oleh makrofag.¹⁶

Pada penelitian lain, minyak atsiri dari cengkeh mampu menghambat IL-1 β , IL-6 dan IL-10 yang diproduksi makrofag teraktivasi LPS. Pada penelitian Grespan pengobatan eugenol mampu menstimulasi IL-10 oleh sel inflamasi lokal model kolagen menginduksi arthritis dan menurunkan kadar sitokin pro inflamasi, $TNF\alpha$, $TGF\beta$ dan IFN γ pada arthritis¹⁷. Penelitian lain tentang efek ekstrak cengkeh pada profil sitokin menyebutkan rentang 1-1000ug/mL mampu menurunkan sitokin IFN- γ .¹⁸

Pada penelitian efek eugenol terhadap sel HeLa menunjukkan eugenol memiliki sedikit efek imunodulator. Namun pengobatan adjuvant dengan eugenol ini mampu bekerja sinergis dengan pengobatan konvensional dengan cara menurunkan dosis dependen dari obat yang digunakan sehingga efek samping juga turun. Eugenol memiliki target pada Bax, Cox-2 dan IL-1b sebagai mediator inflamasi. Eugenol akan menurunkan aktivitas Cox-2 sebagai mediator dan perannya pada inflamasi, dimana peningkatan Cox-2 berperan pada pengeluaran prostaglandin yang memicu banyaknya sel pertahanan tubuh.¹⁵

Eugenol memengaruhi produksi dan proliferasi dari sel T (*cell mediated immunity*) dan sel B (*humoral immunity*). Pada penelitian menggunakan splenosit yang distimulasi LPS, PHA, dan tidak distimulasi menyebutkan bahwa konsentrasi 100ug/mL dan 1000ug/mL dari minyak atsiri cengkeh mampu menurunkan stimulasi sel T dan proliferasinya. Sedangkan, sel B dapat distimulasi dengan konsentrasi yang sama.¹⁸

4. KESIMPULAN

Ekstrak cengkeh memiliki efek imunodulator pada tubuh. Imunodulator diperlukan ketika pertahanan tubuh membutuhkan dari respon imun yang kuat tetapi juga dapat menurunkan respon imun selektif ketika

kondisi autoimun. Penurunan kadar anti inflamasi pada efekturnya merupakan peran penting untuk menurunkan kondisi autoimun.

Efek sitotoksik muncul pada dosis tinggi dimana produksi NO dan iNOS menurun. Hal ini disebabkan senyawa yang terkandung di dalam cengkeh memiliki efek antioksidan tinggi. Sitokin pro inflamasi seperti $TNF\alpha$, $TGF\beta$, dan IL-1 juga mengalami penurunan sehingga secara tidak langsung menurunkan respon imun. Sedangkan pada dosis rendah cengkeh mampu meningkatkan produksi NO sehingga makrofag terstimulasi. Hal ini terjadi kemungkinan terkait efek antiinflamasi yang dimiliki ekstrak cengkeh.

5. SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait efek imunodulator ekstrak cengkeh dengan menggunakan dosis yang berbeda. Begitu pula, sel target ekstrak cengkeh pada sitokin yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wael S, Mahulette F, Wilhelmus Watuguly T, Wahyudi D. Pengaruh Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap Limfosit dan Makrofag Mencit Balb/c. *Jalan Yos Sudarso No 338 Serangan*. 2018;23(2):79–83.
2. Minyak P, Bunga A. PENGAMBILAN MINYAK ATSIRI BUNGA CENGKEH (Clove Oil) MENGGUNAKAN PELARUT n-HEKSANA DAN BENZENA. *J Bahan Alam Terbarukan*. 2013;1(2):25–30.
3. Dibazar SP, Fateh S, Daneshmandi S. Immunomodulatory effects of clove (*Syzygium aromaticum*) constituents on macrophages: In vitro evaluations of aqueous and ethanolic components. *J Immunotoxicol*. 2015;12(2):124–31.
4. Martianasari R, Hamid PH. Larvicidal, adulticidal, and oviposition-deterrent activity of Piper betle L. essential oil to *Aedes aegypti*. *Vet World*.

- 2019;12(3):367–71.
5. Farhath S, Vijaya P, Vimal M. Immunomodulatory activity of geranial, geranial acetate, gingerol, and eugenol essential oils: evidence for humoral and cell-mediated responses. *Avicenna J phytomedicine* [Internet]. 2013;3(3):224–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25050278><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4075709>
 6. Chaplin DD. Overview of the Immune Response. *Allergy Clin Immunol*. 2015;125:826–8.
 7. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. 2014;6(Kishimoto 1989):1–16.
 8. Li W, Tsubouchi R, Qiao S, Haneda M, Murakami K, Yoshino M. Inhibitory action of eugenol compounds on the production of nitric oxide in RAW264.7 macrophages. *Biomed Res*. 2006;27(2):69–74.
 9. Ramona F, Prakoeswa S. *Jurnal Sains dan Informatika*. *J Sains dan Inform*. 4(x).
 10. Handajani J, Fatimah S, Asih R, Latif A. Penurunan Kadar IL-1 β Makrofag Terpapar Agregat Bakteri *Actinomyces comitans* setelah Pemberian Minyak Atsiri Temu Putih. *Maj Kedokt Gigi Indones*. 2015;20(2):130.
 11. Suyanto, Darnoto S, Astuti D. Hubungan Pengetahuan Dan Sikap Dengan Praktek Pengendalian Nyamuk *Aedes aegypti* di Kelurahan Sangkrah Kecamatan Pasar Kliwon Kota Surakarta. *J Kesehat*. 2011;4:1–13.
 12. Besung INK, Astawa NM, Suata K, Suwiti NK. Relationship between the Macrophage Activity with Interleukin-6 Levels and Titers of Antibodies against *Salmonella typhi*. *J Kedokt Hewan - Indones J Vet Sci*. 2016;10(1):1–4.
 13. Bachiega TF, De Sousa JPB, Bastos JK, Sforcin JM. Clove and eugenol in noncytotoxic concentrations exert immunomodulatory/anti-inflammatory action on cytokine production by murine macrophages. *J Pharm Pharmacol*. 2012;64(4):610–6.
 14. Zhang J-M, An J. NOT RIGHT REFERENCE Cytokines, Inflammation and Pain. *Int Anesth Clin*. 2009;69(2):482–9.
 15. Fathy M, Fawzy MA, Hintzsche H, Nikaido T, Dandekar T, Othman EM. Eugenol exerts apoptotic effect and modulates the sensitivity of HeLa cells to cisplatin and radiation. *Molecules*. 2019;24(21).
 16. Abtahi Froushani SM, Zarei L, Esmaili Gouvarchin Ghaleh H, Mansori Motlagh B. Estragole and methyl-eugenol-free extract of *Artemisia dracunculus* possesses immunomodulatory effects. *Avicenna J phytomedicine* [Internet]. 2016;6(5):526–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27761422><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5052415>
 17. Grespan R, Paludo M, De Paula Lemos H, Barbosa CP, Bersani-Amado CA, De Oliveira Dalalio MM, et al. Anti-arthritic effect of eugenol on collagen-induced arthritis experimental model. *Biol Pharm Bull*. 2012;35(10):1818–20.
 18. Dibazar SP, Fateh S, Daneshmandi S. Clove (*Syzygium aromaticum*) ingredients affect lymphocyte subtypes expansion and cytokine profile responses: An in vitro evaluation. *J Food Drug Anal* [Internet]. 2014;22(4):448–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2014.04.005>