



Efek Ekstrak Etanol Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) terhadap Jumlah Neutrofil, Monosit, dan Limfosit Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karagenin

Hizki Ervando,¹ Erni,¹ Muhammad Afzalurrahman Putranda,¹
Joni T. Parinding,² Sari Eka Pratiwi³

¹Mahasiswa, ²Departemen Patologi Klinik, ³Departemen Biologi dan Patologi
Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura,
Pontianak, Kalimantan Barat, Indonesia

ABSTRAK

Latar belakang: Tanaman Kesum (*Polygonum minus* Huds.) merupakan tanaman endemik daerah Kalimantan Barat mengandung flavonoid yang dipercaya dapat berperan sebagai antiinflamasi. **Tujuan:** Mengetahui efek ekstrak etanol daun Kesum terhadap jumlah neutrofil, monosit, dan limfosit tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi karagenin. **Metode:** Desain penelitian *true experimental* dengan *complete randomized design* menggunakan 30 tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif diberi CMC 0,5 mg/kgBB, kelompok kontrol positif diberi natrium diklofenak 2,7 mg/kgBB, kelompok perlakuan 1 diberi ekstrak etanol daun Kesum 4,332 mg/200gBB, kelompok perlakuan 2 diberi ekstrak etanol daun Kesum 8,664 mg/200gBB, dan kelompok perlakuan 3 diberi ekstrak etanol 17,328 mg/200gBB. Karagenin 1% diinduksi pada daerah subplantar. Pengambilan darah, pewarnaan, dan hitung jenis leukosit pada jam 0, 4, 8, dan 12 untuk neutrofil dan monosit, pada jam 0, 12, 24, dan 48 untuk limfosit. Analisis data menggunakan IBM SPSS v20.0 dengan uji *General Linear Model* dilanjutkan *Post Hoc Bonferroni*. **Hasil:** Pada kelompok perlakuan 3 terdapat perbedaan bermakna dalam hal jumlah neutrofil ($p < 0,05$) pada jam ke-4 pada perhitungan apus darah tepi. **Simpulan:** Ekstrak etanol daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) memiliki efek terhadap jumlah neutrofil.

Kata kunci: Antiinflamasi, limfosit, monosit, neutrofil, *Polygonum minus* Huds.

ABSTRACT

Background: Kesum plant (*Polygonum minus* Huds.) is West Borneo endemic plant that contains flavonoid believed to have anti-inflammatory activities. **Objective:** To investigate the effects of ethanol extract of Kesum leaves on white Wistar rat neutrophils, monocytes and lymphocytes count induced by carrageenan. **Method:** True experiment with complete randomized design on 30 rats divided into 5 groups. Negative control group is given CMC 0.5%; positive control is given 2.7 mg/200 mgBW diclofenac sodium; treatment-1 4.322 mg/200 mgBW; treatment-2 8.644 mg/200 mgBW, and treatment-3 17.328 mg/200 mgBW. Carrageenan 1% was induced on sub-plantar area. Blood count and differential leucocytes count were done at 0, 4, 8, and 12 for neutrophils and monocytes, 0, 12, 24, and 48 hours for lymphocytes. Data were analysed using IBM SPSS version 20.0 with General Linear Model test followed by Post Hoc Bonferroni. **Results:** In treatment-3 there is a significant difference ($p < 0.05$) of neutrophyl count in fourth hour. Ethanol extracts of Kesum leaves have an effect on neutrophyl count. **Hizki Ervando, Erni, Muhammad Afzalurrahman Putranda, Joni T. Parinding, Sari Eka Pratiwi. The Effect of Kesum Leaves (*Polygonum minus* Huds.) Ethanol Extracts on White Male Wistar Rat Neutrophils, Monocytes, and Lymphocytes Count Induced by Carrageenan.**

Keywords: Anti-inflammation, lymphocyte, monocyte, neutrophil, *Polygonum minus* Huds.

PENDAHULUAN

Inflamasi atau radang merupakan kondisi yang sering diderita oleh masyarakat, disebabkan oleh infeksi ataupun cedera jaringan secara eksogen ataupun endogen dengan gambaran khas, antara lain panas (*calor*), merah (*rubor*), pembengkakan (*tumor*), nyeri (*dolor*), dan hilangnya fungsi (*functio laesa*).^{1,2} Respons inflamasi terbagi menjadi dua pola ditinjau

dari saat terjadinya, yaitu akut dan kronik. Manifestasi inflamasi dapat bersifat lokal ataupun sistemik berasal dari otot dan tulang, pencernaan, saraf, ataupun organ lain baik akibat kelainan dari dalam maupun didapat dari luar.

Tanaman Kesum (*Polygonum minus* Huds.) adalah salah satu kekayaan hayati

Kalimantan Barat yang berpotensi mengatasi berbagai penyakit. Kesum dimanfaatkan daunnya untuk meningkatkan cita rasa makanan, menghilangkan ketombe, dan untuk pemulihan setelah melahirkan. Selain itu, Kesum diketahui memiliki khasiat antiinflamasi.^{3,4}

Alamat Korespondensi email: hizkiervando14@gmail.com

HASIL PENELITIAN



TUJUAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiinflamasi ekstrak etanol daun Kesum terhadap jumlah hitung jenis neutrofil, monosit, dan limfosit pada apus darah tepi tikus putih jantan galur Wistar yang diinjeksi karagenin dan mengetahui dosis efektif ekstrak daun Kesum sebagai antiinflamasi.

METODE

Penelitian *true experimental* dengan *complete randomized design*; menggunakan 30 tikus

yang dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif diberi CMC (*Carboxymethyl Cellulose*) 0,5 mg/kgBB; kelompok kontrol positif diberi natrium diklofenak 2,7 mg/kgBB; kelompok perlakuan 1 diberi ekstrak etanol daun Kesum 4,332 mg/200gBB, kelompok perlakuan 2 diberi 8,664 mg/200gBB, dan kelompok perlakuan 3 diberi 17,328 mg/200gBB. Perhitungan dosis ekstrak daun Kesum berdasarkan dosis LC50 melalui metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).⁵ Kemudian tikus diinduksi dengan

karagenin 1% pada area subplantar kaki. Ekstrak diberikan per oral sesaat setelah karagenin disuntikkan. Kemudian dilakukan pengambilan darah, pembuatan apusan darah tepi, dan perhitungan leukosit sebagai dasar perhitungan neutrofil, monosit, dan limfosit. Pengambilan darah selanjutnya dilakukan pada jam 4, 8, dan 12 untuk perhitungan jumlah neutrofil dan monosit, sedangkan untuk perhitungan jumlah limfosit pada jam 12, 24 dan 48. Pengambilan darah pada waktu yang berbeda menyesuaikan dengan saat kemunculan agen inflamasi akut dan kronik, sesuai teori kemunculan sel leukosit sebagai agen inflamasi.⁶ Analisis data dengan uji *General Linear Model* (GLM) menggunakan IBM SPSS versi 20.0 untuk mengetahui perbedaan dari setiap pengukuran pada seluruh kelompok penelitian kemudian dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc Bonferroni* untuk mengetahui saat pengukuran yang memiliki perbedaan bermakna.

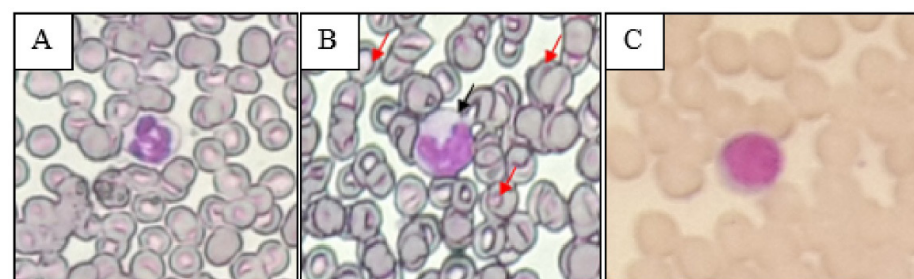
Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun Kesum

Nama Uji	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Alkoid	■ Mayer ■ Dragendroff	+	■ Endapan Putih ■ Endapan Jingga
Fenol	FeCl ₃	+	Biru Kehitaman
Flavonoid	HCl Peekat	+	Kuning
Tanin	FeCl ₃ 5%	+	Biru Kehitaman
Saponin	HCl 2N	+	Terbentuk Buih
Terponoid	CH ₃ COOH glasial dan H ₂ SO ₄ pekat	+	Merah
Steroid	CH ₃ COOH glasial dan H ₂ SO ₄ pekat	+	Biru

Keterangan: (+) mengandung senyawa (-) tidak mengandung senyawa

Tabel 2. Hasil analisis *general linear model* (GLM) berdasarkan saat pengambilan pada setiap kelompok

	Kontrol Negatif Rerata (S.D.)	Kontrol Positif Rerata (S.D.)	Perlakuan 1 Rerata (S.D.)	Perlakuan 2 Rerata (S.D.)	Perlakuan 3 Rerata (S.D.)	Nilai p
Neutrofil						
Jam ke-0	34,50 (1,870)	34,00 (2,828)	34,00 (3,741)	33,16 (4,020)	33,00 (3,741)	0,007
Jam ke-4	43,83 (1,940)	38,50 (2,073)	42,33 (3,559)	41,33 (4,760)	39,33 (4,633)	
Jam ke-8	40,33 (1,632)	36,33 (1,751)	39,16 (4,535)	37,66 (5,006)	37,83 (4,915)	
Jam ke-12	37,00 (2,607)	33,83 (3,656)	36,66 (3,723)	35,00 (4,381)	34,50 (1,378)	
Monosit						
Jam ke-0	1,67 (0,817)	1,67 (0,817)	1,67 (0,817)	1,83 (0,753)	1,67 (0,817)	0,768
Jam ke-4	2,33 (0,817)	1,83 (0,753)	2,00 (1,095)	2,00 (1,095)	2,00 (1,095)	
Jam ke-8	2,50 (1,049)	2,00 (0,632)	2,50 (1,225)	2,50 (1,228)	2,33 (1,366)	
Jam ke-12	2,00 (1,095)	2,00 (0,894)	2,33 (1,033)	2,33 (1,211)	2,33 (1,22)	
Limfosit						
Jam ke-0	63,50 (2,258)	63,67 (3,077)	63,50 (2,588)	63,67 (3,830)	63,17 (2,787)	0,121
Jam ke-12	61,00 (2,191)	63,33 (2,944)	60,83 (2,639)	61,17 (2,401)	61,50 (1,049)	
Jam ke-24	63,00 (1,265)	63,50 (2,074)	63,33 (2,160)	63,00 (3,633)	63,33 (2,733)	
Jam ke-48	65,67 (1,506)	63,67 (2,338)	64,50 (1,049)	64,33 (4,274)	64,17 (2,927)	



Gambar. Gambaran sel neutrofil monosit dan limfosit yang diamati. Sel darah merah terlihat pada pewarnaan Giemsa (tanda panah merah), Sel neutrofil (A), monosit (B), dan limfosit (C) dengan tanda panah hitam. Pewarnaan Giemsa; pembesaran 400x (sumber: data primer).

HASIL

Hasil uji skrining fitokimia menggunakan uji tabung; hasilnya dapat dilihat pada tabel 1.

Pengamatan pada apusan darah tepi yang telah diwarnai Giemsa. Sel-sel leukosit diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali (**Gambar**).

Hasil uji GLM menghasilkan perbedaan bermakna jumlah neutrofil, yaitu $p=0,007$ ($p<0,05$). Jumlah monosit dan limfosit tidak berbeda bermakna (nilai p berturut-turut adalah 0,768 dan 0,121 ; $p>0,05$) (**Tabel 2**).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan terjadi proses inflamasi akut di kelompok kontrol negatif yang mendapat perlakuan CMC (*Carboxymethyl Cellulose*) 0,5 g. Karagenin menginduksi mediator inflamasi yang akan memperantarai perubahan seluler yang ditandai adanya migrasi leukosit, terutama neutrofil, dan juga mengakibatkan perubahan vaskuler. Karagenin akan mencapai kadar puncaknya dalam 4 jam dan berangsur-angsur menurun setelah 6 jam hingga 24 jam, sehingga tidak menginduksi inflamasi kronis.^{6,7} Pada penelitian ini terjadi peningkatan rerata jumlah neutrofil relatif pada jam ke-4 dan terjadi penurunan rerata jumlah monosit pada jam ke-8 serta rerata jumlah limfosit pada jam ke-12 setelah injeksi karagenin.



HASIL PENELITIAN

Pada kelompok kontrol positif intervensi natrium diklofenak 2,7 mg/200gBB terjadi penurunan rerata jumlah hitung jenis neutrofil yang berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol negatif dan menekan peningkatan neutrofil lebih baik pada jam ke-4. Hal ini menunjukkan natrium diklofenak merupakan agen antiinflamasi. Penurunan rerata jumlah monosit dan limfosit tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini dapat disebabkan karena limfosit dan monosit sebagai lini kedua dalam respons inflamasi, kurangnya stimulus inflamasi atau sudah ditekan terlebih dahulu oleh agen antiinflamasi lainnya, yaitu neutrofil.^{8,9}

Pada kelompok perlakuan dengan ekstrak daun Kesum dalam variasi dosis (4,332 mg/200gBB, 8,664 mg/200gBB, 17,328 mg/200gBB) terlihat penurunan rerata jumlah neutrofil yang berbeda bermakna dibandingkan kontrol negatif. Hal ini dapat menunjukkan efek antiinflamasi senyawa flavonoid yang terkandung pada ekstrak etanol daun Kesum yang dibuktikan melalui skrining fitokimia. Pan, *et al*,¹⁰ menjelaskan bahwa senyawa flavonoid dapat mengganggu pembentukan asam arakidonat dari fosfolipid dan mengurangi metabolit turunan metabolisme asam arakidonat dan kerusakan oksidatif lainnya, sehingga penyebaran inflamasi menuju tahap kronik yang berdampak pada kerusakan jaringan dapat dicegah. Pada penelitian ini rerata jumlah monosit dan limfosit tidak berbeda bermakna dengan kontrol negatif ataupun positif. Hal ini dapat terjadi karena proses inflamasi telah terhenti pada tahap akut inflamasi dibuktikan dengan menurunnya rerata jumlah neutrofil, sehingga efek antiinflamasi ekstrak daun Kesum hanya tampak pada tahap akut.^{10,11}

Pada uji parametrik *General Linear Model* (GLM) diketahui bahwa rerata jumlah neutrofil berbeda bermakna ($p < 0,05$) pada setiap pengukuran pada seluruh kelompok penelitian, sedangkan rerata jumlah monosit dan limfosit tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$). Pada inflamasi akut, neutrofil merupakan leukosit pertama yang berperan pada lokasi peradangan. Neutrofil akan melakukan proses fagositosis dan membunuh mikroorganisme, salah satunya dengan mengeluarkan radikal bebas seperti superoksida (O_2^-) yang kemudian diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal hidroksil, derivat toksik nitrit oksida yang dapat meningkatkan kaskade mediator peradangan. Monosit juga turut berperan dalam proses inflamasi dengan menghasilkan berbagai mediator inflamasi, yaitu sitokin *tumor necrosis factor* (TNF) dan *interleukin 1* (IL-1). Baik sitokin TNF maupun IL-1 dapat menginduksi pengeluaran molekul adhesi, produksi asam arakidonat, dan NO. TNF juga menyebabkan agregasi dan aktivasi neutrofil serta pelepasan enzim proteolitik dari sel mesenkim, sehingga berperan dalam kerusakan jaringan. Sel monosit matur dalam sirkulasi yang memasuki jaringan akan menjadi makrofag.^{12,13} Makrofag yang teraktivasi menghasilkan sitokin, yaitu TNF dan IL-1, yang dapat mengaktifkan limfosit, sedangkan limfosit menghasilkan *interferon* γ (IFN- γ) yang dapat mengaktifkan makrofag dan monosit, sehingga makrofag dan limfosit memiliki hubungan timbal balik dalam memediasi inflamasi kronis.¹⁴ Pada penelitian ini, fungsi monosit dan aktivasi limfosit dalam kaskade peradangan menuju tahap kronik tidak terjadi, karena efek antiinflamasi ekstrak daun Kesum telah menekan peningkatan rerata jumlah neutrofil sebagai leukosit pertama yang berperan dalam peradangan akut.

Pada penelitian ini untuk monosit dan limfosit

tidak dilakukan uji analisis *Post Hoc Bonferroni* seperti halnya pada neutrofil, karena neutrofil memiliki perbedaan bermakna pada jam ke-4 berupa peningkatan jumlah, sedangkan pada monosit dan limfosit dalam 24 jam belum menunjukkan fungsi sebagai agen inflamasi kronik.¹³ Pada hasil analisis uji ANOVA dengan *Post Hoc LSD* diketahui pada jam ke-4 kelompok kontrol positif ($p = 0,017$) dan kelompok perlakuan 3 ($p = 0,040$) berbeda bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan kontrol negatif, yaitu memiliki efek menekan inflamasi (**Tabel 3 dan 4**). Kontrol positif bermakna apabila dibandingkan kelompok perlakuan 3, menandakan bahwa kelompok perlakuan 3 memiliki efek antiinflamasi pada jam ke-4 lebih baik dibandingkan kelompok perlakuan 2 dan 1, tetapi kurang dibandingkan kontrol positif natrium diklofenak.¹⁵ Hal ini sejalan dengan penelitian George, *et al*, bahwa senyawa flavonoid dalam ekstrak tanaman daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) dapat mengganggu pembentukan asam arakidonat dari fosfolipid dan mengurangi metabolit turunan metabolisme asam arakidonat dan kerusakan oksidatif lainnya, sehingga penyebaran inflamasi menuju tahap kronik yang berdampak pada kerusakan jaringan dapat dicegah. Hal ini dilakukan dengan menghambat aktivitas enzim fosfolipase A2, enzim siklooksigenase, dan enzim lipooksigenase seperti tampak pada penelitian ini berupa penekanan kadar neutrofil darah sebagai respons antiinflamasi.¹⁶

SIMPULAN

Ekstrak etanol daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) memiliki efek antiinflamasi terhadap jumlah neutrofil pada apus darah tepi tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi karagenin dengan dosis efektif 17,328 mg/200gBB.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thrombosis Vascular Biol.* 2011;31(5):986-1000.
2. Rengganis I, Baratawidjaja K. *Imunologi dasar*. 10th Ed. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Indonesia; 2012.
3. Bunawan H, Choong CY, Md-Zain BM, Baharum SN, Noor NM. Molecular systematics of *Polygonum minus* Huds. Based on ITS Sequences. *Int J Mol Sci.* 2011;12(12):7626-34.
4. Vikram P, Chiruvella KK, Ripain IHA, Arifullah M. A recent review on phytochemical constituents and medicinal properties of Kesum (*Polygonum minus* Huds.). *Asian Pac J Trop Biomed.* 2014;4(6):430-5.
5. Kurniawan H. Uji toksisitas akut ekstrak metanol daun Kesum (*Polygonum minus* Huds) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode brine shrimp lethality test (BSLT). Pontianak, Kalimantan: Universitas Tanjungpura; 2011.
6. Christopher P, Parasuraman S, Christina JA, Vikneswaran M, Asmawi MZ. Review on *Polygonum minus* Huds., a commonly used food additive in Southeast Asia. *Pharmacogn Res.* 2015;7(1):1.
7. Baharum SN, Bunawan H, Ghani MA, Mustapha WAW, Noor NM. Analysis of the chemical composition of the essential oil of *Polygonum minus* Huds. Using two-

HASIL PENELITIAN



- dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry (GC-TOF MS). *Molecules*. 2010;15(10):7006–15.
8. Ming YK, Zulkawi NBT, Kotak CV, Choudhary YK. Acute and sub-acute oral toxicity of *Polygonum minus* aqueous extract (biotropics PM101) in Wistar rats. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2013;5(2):120–4.
 9. Caielli S, Banchereau J, Pascual V. Neutrophils come of age in chronic inflammation. *Curr Opin Immunol*. 2012;24(6):671–7.
 10. Qader SW, Abdulla MA, Chua LS, Hamdan S. Potential bioactive property of *Polygonum minus* Huds. (Kesum) review. *Sci Res Essays*. 2012;7(2):90–3.
 11. Pan MH, Lai CS, Ho CT. Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids. *Food Funct*. 2010;1(1):15–31.
 12. Ummah FC, Belladonna M, Retnaningsih. Rasio neutrofil limfosit darah tepi sebagai indikator outcome pada stroke iskemik akut. *J Kedokt Diponegoro* 2016;5(4):827-241.
 13. Forget P, Khalifa C, Defour JP, Latinne D, Van Pel MC, Kock MD. What is the normal value of the neutrophile-to-lymphocyte ratio? *BMC Res Notes* 2017;10(12):4.
 14. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. Elsevier Health Sci; 2014.
 15. Zizzo G, Cohen PL. IL-17 stimulates differentiation of human anti-inflammatory macrophages and phagocytosis of apoptotic neutrophils in response to IL-10 and glucocorticoids. *J Immunol*. 2013;190(10):5237-46.
 16. George A, Chinnappan S, Chintamaneni M, Kotak V, Choudhary Y, Kueper T, et al. Anti-inflammatory effects of *Polygonum minus* (Huds) extract (LineminusTM) in in-vitro enzyme assays and carrageenan induced paw edema. *BMC Complement Altern Med*. 2014;14(1):355.
 17. Khandpur R, Carmona-Rivera C, Vivekanandan-Giri A, Gizinski A, Yalavarthi S, Knight JS, et al. NETs Are a Source of Citrullinated Autoantigens and Stimulate Inflammatory Responses in Rheumatoid Arthritis. *Sci Transl Med*. 2013;5(178):178.
 18. Depkes RI. Profil kesehatan Indonesia 2009. Jakarta: Depkes RI; 2010.
 19. Dinas Kesehatan Pemerintah Provinsi Kalimantan Barat. Profil kesehatan provinsi Kalimantan Barat tahun 2011-2012. Pontianak: Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Barat; 2013.