

INTISARI

Makrofag merupakan sel imun yang berperan sebagai pertahanan diri dalam respons imun non-spesifik. Aktivasi makrofag terjadi dengan mengeluarkan mediator inflamasi seperti nitrit oksida (NO), sitokin *tumor necrosis factor* (TNF)- α , dan interleukin (IL)-1 β . Makrofag dapat diaktifkan melalui beberapa jalur salah satunya *nuclear factor-kappa B* (NF- κ B). Herba meniran (*Phyllanthus ninuri* L.) dan rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val. & Zijp) secara tunggal diketahui memiliki efek imunomodulator. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek dan mekanisme imunomodulator kombinasi ekstrak etanolik herba meniran dan rimpang temu mangga dengan perbandingan 1:1 terhadap sel RAW 264.7.

Simplisia herba meniran dan rimpang temu mangga diekstraksi menggunakan metode *ultrasound-assisted extraction*. Penentuan kadar flavonoid total ekstrak herba meniran dan kadar kurkuminoid total ekstrak rimpang temu mangga menggunakan metode spektrofotometri visibel, sedangkan penentuan profil senyawa dalam ekstrak menggunakan metode *high-performance thin-layer chromatography*. Penelitian ini menggunakan sel RAW 264.7 yang diberi perlakuan ekstrak dengan berbagai seri konsentrasi. Viabilitas sel diketahui menggunakan metode *MTT assay* untuk melihat konsentrasi ekstrak yang tidak memberikan efek toksik. Aktivitas imunomodulator dilakukan terhadap produksi NO dan sitokin pro-inflamasi. Produksi NO dievaluasi menggunakan reagen *Griess*. Pengujian ekspresi sitokin TNF- α dan IL-1 β menggunakan metode ELISA. Mekanisme imunomodulator ekstrak pada jalur NF- κ B diketahui dengan melihat ekspresi protein p-I κ B α dan p-p65 menggunakan metode Western Blot. Hasil yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif dan statistik menggunakan uji *one-way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 95%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanolik herba meniran mengandung kadar flavonoid total sebesar $2,23 \pm 0,16$ (% b/b) ekuivalen terhadap rutin, sedangkan ekstrak etanolik rimpang temu mangga mengandung kadar demetoksikurkumin sebesar $0,10 \pm 0,00$ (% b/b) dan kadar kurkuminoid total sebesar $0,46 \pm 0,00$ (% b/b). Kombinasi ekstrak etanolik herba meniran dan rimpang temu mangga pada konsentrasi 25 μ g/mL dengan perbandingan 1:1 memengaruhi perubahan morfologi sel RAW 264.7 serta meningkatkan produksi NO dan IL-1 β . Pengaruh kombinasi ekstrak pada konsentrasi 3,125 hingga 18,75 μ g/mL meningkatkan produksi TNF- α , akan tetapi produksi TNF- α turun pada konsentrasi 25 μ g/mL. Selain itu, kombinasi ekstrak pada konsentrasi 25 μ g/mL dengan perbandingan 1:1 meningkatkan aktivasi sel makrofag melalui protein p-I κ B α dan p-p65. Berdasarkan hasil uji kombinasi ekstrak etanolik herba meniran dan rimpang temu mangga memiliki aktivitas imunomodulator dengan meningkatkan produksi NO, TNF- α , dan IL-1 β melalui jalur NF- κ B.

Kata kunci: imunomodulator, herba meniran, rimpang temu mangga, sel RAW 264.7, NF- κ B

ABSTRACT

Macrophages are immune cells that play a role in self-defense in non-specific immune responses. Macrophage activation releases inflammatory mediators, including nitric oxide (NO), TNF- α , and IL-1 β cytokines. Macrophages can be activated through several pathways, one of which is the nuclear factor-kappa B (NF- κ B) signaling pathway. *Meniran* (*Phyllanthus ninuri* L.) herbs and *temu mangga* (*Curcuma mangga* Val. & Zijp) rhizomes are known to have an immunomodulatory effect. This study aimed to determine the immunomodulatory effect and mechanism of combining ethanolic extract of *meniran* herbs and *temu mangga* rhizomes with the ratio of 1:1 to RAW 264.7 cells.

Unprocessed natural ingredients were extracted using the ultrasound-assisted extraction method. The total flavonoid content of *meniran* extract and the total curcuminoid content of *temu mangga* extract used visible spectrophotometry. Besides, the determination of extract compounds profiles using high-performance thin-layer chromatography. The study used RAW 264.7 cells treated with various concentrations of the extract. Cell viability was determined by MTT assay to see the concentration of the extract, which did not have a toxic effect. The immunomodulatory activity was evaluated on the production of NO and pro-inflammatory cytokines. NO production was evaluated using Griess reagent. The expression of TNF- α and IL-1 β cytokines using the ELISA method. The immunomodulatory mechanism in the NF- κ B signaling pathway by looking at the expression of p-I κ B α and p-p65 proteins using Western Blot method. The results were analyzed descriptively and statistically using the one-way ANOVA test with a 95% confidence level.

The results showed that the ethanolic extract of *meniran* herbs contained total flavonoid content of 2.23 ± 0.16 (% w/w), equivalent to rutin. Whereas, the ethanolic extract of *temu mangga* rhizomes had a demethoxycurcumin content of 0.10 ± 0.00 (% w/w) and total curcuminoid content of 0.46 ± 0.00 (% w/w). The ethanolic extract of *meniran* herbs and *temu mangga* rhizome at 25 μ g/mL with the ratio of 1:1 affected the morphology changes of RAW 264.7 cells and increased NO and IL-1 β production. The combination of extracts at concentrations of 3.125 to 18.75 μ g/mL increased TNF- α production. However, TNF- α production decreased at a concentration of 25 μ g/mL. Additionally, combining two extracts at 25 μ g/mL with the ratio of 1:1 increases macrophage cell activation through p-I κ B α and p-p65 protein. Based on the results, the combination of ethanolic extract of *meniran* herbs and *temu mangga* rhizomes has an immunomodulatory effect by increasing the production of NO, TNF- α , and IL-1 β through the NF- κ B signaling pathway.

Keywords: immunomodulator, *meniran* herbs, *temu mangga* rhizomes, RAW 264.7 cells, NF- κ B