

INTISARI

Adanya peningkatan prevalensi penyakit kronik dan penyakit gangguan imunitas membutuhkan suatu agen imunomodulator yang berfungsi untuk memodulasi sistem imun. Imunomodulator yang berasal dari bahan alami diyakini bersifat relatif aman dan tidak menunjukkan efek samping yang signifikan. Salah satu tanaman yang berpotensi dikembangkan sebagai imunomodulator adalah bengkoang (*Pachyrhizus erosus*). Sampai saat ini belum ada studi yang meneliti tentang efek imunomodulator ekstrak petroleum eter (EPE) bengkoang yang mengandung senyawa non polar (β -sitosterol) dan fraksi etil asetat (FEA) dari ekstrak metanol umbi bengkoang yang mengandung senyawa semipolar (daidzein) yang diduga berkhasiat sebagai imunomodulator. Saat ini uji imunomodulator pada bengkoang masih terbatas pada ekstrak fiber bengkoang dan fraksi dari fiber bengkoang. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan aktivitas imunomodulator EPE bengkoang dan FEA dari ekstrak metanol bengkoang secara *in vitro* dan *in vivo* serta menetapkan kadar senyawa β -sitosterol dan daidzein.

Pengujian *in vitro* dilakukan untuk membuktikan aktivitas fagositosis makrofag dengan metode *latex beads*, proliferasi limfosit dengan metode MTT assay, dan produksi sitokin TNF- α , IL-6, dan IL-10 dari supernatan limfosit. Pengujian aktivasi makrofag dilakukan secara *in vitro* pada Sel RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida dengan mengamati ekspresi gen *TLR-4*, *NF- κ B*, *TNF- α* , *iNOS*, *IFN- γ* , dan *IL-6*. Pengujian *in vivo* dilakukan untuk mengetahui aktivitas fagositosis makrofag, proliferasi limfosit, produksi nitrit oksid, produksi sitokin TNF- α dan IL-10 serta antibodi (IgG) Penetapan kadar daidzein menggunakan metode RP-HPLC dengan fase diam kolom C-18, fase gerak metanol: asam asetat 0,1% dalam air (57:43) dengan detektor PDA pada λ 249 nm. Kadar β -sitosterol ditetapkan dengan metode GC-MS.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak petroleum eter (EPE), ekstrak metanol (EM), dan fraksi etil asetat (FEA) bengkoang secara *in vitro* mampu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag sel peritoneal mencit dan dapat memodulasi produksi sitokin TNF- α , IL-6, dan IL-10 dari supernatan limfosit. Ekstrak petroleum eter (EPE) dan EM bengkoang secara *in vitro* dapat meningkatkan ekspresi gen *TLR-4*, *NF- κ B*, *iNOS*, dan *TNF- α* relatif dibanding β -actin pada sel RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida. Pemberian EPE, EM, dan FEA bengkoang secara *in vivo* dapat memodulasi sistem imun dengan meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag, meningkatkan proliferasi limfosit, memodulasi produksi sitokin TNF- α dan IL-10. Ekstrak metanol (EM) dan FEA mampu meningkatkan produksi IgG sedangkan EPE bengkoang pada dosis 200 mg/kg BB justru menurunkan produksi IgG pada mencit yang diinduksi vaksin hepatitis B. Kesimpulan EPE, EM, dan FEA bengkoang terbukti mempunyai aktivitas imunomodulator secara *in vitro* dan *in vivo* terhadap respon imun *innate* dan humoral. Kadar β -sitosterol dalam EPE sebesar $10,98 \pm 0,39\%$ dan $0,56 \pm 0,02$ mg% dalam bengkoang kering. Kadar daidzein dalam FEA sebesar $0,25 \pm 0,01\%$ dan $4,1 \pm 0,2$ mg% dalam bengkoang kering.

Kata kunci: Bengkoang (*Pachyrhizus erosus*), daidzein, β -sitosterol, sitokin, Imunoglobulin G

ABSTRACT

The increasing prevalence of chronic diseases and immune disorders requires an immunomodulatory agent that functions to modulate the immune system. Immunomodulators derived from natural ingredients are believed to be relatively safe and do not show significant side effects. One of the plants that has the potential to be developed as an immunomodulator is Bengkoang (*Pachyrhizus erosus*). Until now, there have been no studies examining the immunomodulatory effects of petroleum ether extract (PEE) and ethyl acetate fraction (EAF) from methanol extract of yam tubers which contain non-polar (β -sitosterol) and semipolar (daidzein) compounds which are thought to be effective as immunomodulators. Currently, the immunomodulatory test on bengkoang is still limited to fiber and fiber fractions. The purpose of this study was to prove the immunomodulatory activity of PEE and EAF of bengkoang extract in vitro and in vivo and to determine the levels of β -sitosterol and daidzein compounds.

In vitro studies were conducted to prove the phagocytic activity of macrophages using the latex beads method, lymphocyte proliferation using the MTT assay method, and the production of cytokines TNF- α , IL-6, and IL-10 from lymphocyte supernatants by the Sandwich ELISA method. Meanwhile, to determine the activation of macrophages carried out in vitro on RAW 264.7 cells induced by lipopolysaccharide by observing the gene expression of *TLR-4*, *NF- κ B*, *TNF- α* , *iNOS*, *IFN- γ* , and *IL-6*. Meanwhile, in vivo tests were carried out to examine the phagocytic activity of macrophages, lymphocyte proliferation, nitric oxide (NO) production, TNF- α , IL-10 cytokine and antibodies (IgG) production. Determination of daidzein levels using the RP-HPLC method with a stationary phase column C-18, methanol: acetic acid 0.1% in water (57:43) as a mobile phase, with a PDA detector at λ 249 nm. The levels of β -sitosterol were determined using the GC-MS method.

The results showed that the petroleum ether extract (PEE), methanol extract (ME), and the ethyl acetate fraction (EAF) of bengkoang in vitro were able to increase the phagocytic activity of mouse peritoneal macrophages and modulate the production of cytokines TNF- α , IL-6, and IL-10 of the lymphocyte supernatant. PEE and ME of bengkoang in vitro increased the expression of *TLR-4*, *NF- κ B*, *iNOS*, and *TNF- α* genes relative to β -actin in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 cells. In vivo administration of PEE, ME, EAF of bengkoang can modulate the immune system by increasing the phagocytic activity of macrophages, increasing lymphocyte proliferation, modulating the production of TNF- α and IL-10 cytokines. The methanol extract (ME) and EAF of bengkoang increased IgG production, while PEE of bengkoang at a dose of 200 mg/kg BW actually decreased IgG production in mice induced by hepatitis B vaccine. Based on these results, it can be concluded that PEE, ME, and EAF of bengkoang have immunomodulatory activity against innate and humoral immune responses. The levels of β -sitosterol were $10,98 \pm 0,39\%$ in PEE and $0,56 \pm 0,02$ mg% in dry bengkoang. Daidzein levels were $0,25 \pm 0,01\%$ in EAF or $4,1 \pm 0,2$ mg% in dry bengkoang.

Key words: Bengkoang (*Pachyrhizus erosus*), daidzein, β -sitosterol, cytokines, Immunoglobulin G