

Artikel asli

**PENGARUH PROPOLIS TERHADAP SEKRESI INTERLEUKIN-12
PADA SUPERNATAN KULTUR MAKROFAG
DARI PENDERITA TUBERKULOSIS PARU YANG DIINFEKSI
*Mycobacterium tuberculosis***

*Made Linawati, **Made Bagiada

*Bagian Histologi

**Bagian / SMF Ilmu Penyakit Dalam FK Unud / RSUP Sanglah Denpasar
e-mail: linawandira@yahoo.com

ABSTRACT

THE ROLE OF PROPOLIS TO INTERLEUKIN-12 SECRETION IN MACROPHAGES CULTURE FROM PULMONARY TUBERCULOSIS PATIENT THAT INFECTED WITH *Mycobacterium tuberculosis*

The uses of adjuvan immunotherapy has attract the attention tuberculosis treatment, because of the increasing patient persentage in antituberculosis agent. Propolis is bee glue, contain of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) that assume immunomodulator activities. The aim of this study were to assess the role of propolis to interleukin 12 secretion in macrophages culture from pulmonary tuberculosis patient that infected with *Mycobacterium tuberculosis* (M tb). This study was true experimental using post test only control group design, with sampel from peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of lung tuberculosis patient that divided into 3 groups within 6 replication. Group I as control group without M tb infection and propolis intervention; group II treatment group with M tb infection only; and group III treatment with M tb infection and propolis intervention. Interleukin 12 secretion were measured 48 hours post M.tb infection. Result showed that means of interleukin 12 secretion at these groups are 11 pg/ml; 23.33 pg/ml; 37 pg/ml in which intervention of propolis 10 mg/ml before M tb infection could increase interleukin 12 consentration significantly ($p < 0.05$) compared with control group and group with infection of M tb only. We conclude that propolis could increases macrophages activities with in increase secretion of interleukin 12.

Keywords: interleukin 12 secretion, propolis, macrophages culture from lung tuberculosis patient

PENDAHULUAN

Tuberkulosis dapat terjadi dimana saja dalam tubuh namun kebanyakan timbul sebagai infeksi jaringan parenkim paru.¹ Data WHO 2003 menunjukkan bahwa Indonesia adalah penyumbang kasus tuberkulosis terbesar ke tiga di dunia, setelah India dan Cina. Diperkirakan, sekitar 140.000 orang Indonesia yang

meninggal setiap tahunnya akibat tuberkulosis ini.^{2,3}

Pengobatan TB di Indonesia telah mengikuti anjuran dari WHO yaitu melalui program DOTS (*Directly Observe Treatment Short Course*) yaitu penggunaan OAT minimal selama 6 bulan untuk mengobati pasien tuberkulosis dengan pengawasan. Namun tetap saja terjadinya kegagalan pengobatan cukup tinggi yang menyebabkan peningkatan jumlah penderita tuberkulosis. Kegagalan

pengobatan dapat disebabkan oleh berbagai faktor yang salah satunya adalah resistensi terhadap OAT. Resistensi OAT terutama disebabkan oleh *erratic drug intake* (khususnya pengobatan tidak lengkap / interuptus) dan pengobatan hanya dengan satu obat anti tuberkulosis saja.⁴⁻⁶

Berbagai manifestasi yang timbul akibat infeksi *M tuberculosis* menggambarkan adanya keseimbangan antara kuman (*M tuberculosis*) dengan mekanisme pertahanan tubuh *host* (*host immunity*) dimana mekanisme pertahanan tubuh *host* sangat menentukan hasil akhir yang dapat ditimbulkan. Terdapat peran penting dari makrofag sebagai eksekutor non spesifik dan sel T sebagai mediator spesifik dalam menghancurkan *M tuberculosis*. Fagositosis, pengenalan oleh sistem imun, produksi sitokin dan mekanisme efektor merupakan peran dari *innate immunity*. Makrofag yang teraktivasi oleh infeksi *M tuberculosis* memproduksi sitokin type 1 seperti IL-12, IL-18, IL-23.¹ Sekresi IL-12 dari makrofag merupakan awal dari regulasi respon imun, bertindak sebagai sitokin *proinflammatory* yang dapat merangsang produksi IFN- γ oleh sel Th1 dan sel NK yang dapat meningkatkan aktivasi makrofag dalam menghadapi infeksi *M tuberculosis*.⁷ Penggunaan imunoterapi tambahan menarik perhatian untuk mengatasi tuberkulosis, terutama karena peningkatan persentase penderita yang resisten terhadap obat antituberkulosis. Imunomodulator diharapkan dapat digunakan untuk memperbaiki atau membangun kembali (imunorestorasi) sistem imun yang kurang sempurna atau mengalami disfungsi.^{8,9}

Imunomodulator ada yang bersifat spesifik dan non spesifik. Imunomodulator spesifik contohnya antibodi monoklonal, sedangkan yang nonspesifik contohnya vaksin BCG dan *Corynebacterium parvum*, yang telah dimanfaatkan secara klinis. Imunomodulator nonspesifik dapat meningkatkan respon makrofag terhadap infeksi karena adanya sekresi sitokin atau limfokin oleh limfosit T, misalnya IFN- γ dan TNF- α .^{10,11}

Kelemahan dari imunomodulator adalah diperlukan adanya pemaparan berulang untuk menghasilkan sitokin yang mampu mengaktivasi makrofag sebab tanpa adanya pemaparan berulang dalam jangka waktu tertentu mengakibatkan dalam tubuh tidak akan dijumpai limfosit T spesifik yang mensekresikan sitokin yang dapat mengaktivasi makrofag.¹² Berdasarkan hal tersebut maka diperlukan imunomodulator yang tingkat ketersediaannya tinggi sehingga bisa diberikan berulang dalam jangka waktu panjang seperti imunomodulator yang berasal dari alam. Propolis merupakan contoh imunomodulator alam. Propolis disebut sebagai lem lebah, merupakan substansi resin, berwarna kecoklatan yang dibuat lebah dengan mengumpulkan getah resin dari pohon-pohon kemudian mencampurnya dengan nektar dan membentuk substansi wax lilin disarangnya. Secara kimia propolis mengandung bahan kompleks yang sangat kaya berbagai terpen dan benzoat yang potensial, caffeate, cinnamat, asam phenolat dan flavonoid yang memiliki banyak manfaat. *Caffeic Acid Phenetyl Esther* (CAPE) yang memiliki aktivitas sebagai imunomodulator juga terkandung didalamnya.^{13,14} Pada beberapa penelitian, propolis diketahui memiliki aktivitas antimikrobial, antifungal, antivirus, antioksidan, antitumor, antiinflamasi, anti trombotik dan kemampuan regeneratif namun literatur yang menyebutkan efeknya pada respon imun masih jarang.¹⁵ Penelitian ini meneliti secara *in vitro* peranan propolis terhadap aktivitas sekresi IL-12 pada supernatan kultur makrofag yang terinfeksi *M tuberculosis*, apakah terdapat perbedaan efek propolis terhadap aktivitas sekresi IL-12 dari supernatan kultur makrofag terinfeksi *M tuberculosis* dari penderita tuberkulosis.

BAHAN DAN CARA

Penelitian dilaksanakan di beberapa tempat yaitu pengambilan sampel penderita tuberkulosis paru di poliklinik paru RSUP Sanglah, isolasi PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cells) dari *Buffy coat* di sublab

mikrobiologi Patologi Klinik RSUP Sanglah Denpasar, kultur makrofag dari PBMC serta perlakuan infeksi *M tuberculosis* dan propolis dilakukan di laboratorium Tuberkulosis TDC (sekarang ITD) Surabaya. Rancangan penelitian yang dipakai adalah eksperimental murni dengan pola *post test only control group design*, mengukur kadar IL-12 pada supernatan kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru setelah diberi perlakuan infeksi *M tuberculosis* strain virulen H37Rv dan propolis 10 µg/ml. Secara random, makrofag dari penderita tuberkulosis paru di kelompokkan menjadi 3 yaitu kelompok I atau kelompok kontrol (tanpa perlakuan infeksi *M tuberculosis* dan propolis), kelompok II (hanya perlakuan infeksi *M tuberculosis*) dan kelompok III (perlakuan infeksi *M tuberculosis* dilanjutkan intervensi propolis). Kemudian diukur konsentrasi interleukin 12 dengan metode Elisa setelah 48 jam perlakuan. Sampel penelitian berupa makrofag dengan melakukan kultur *peripheral blood monocytes cell* (PBMC) dari penderita tuberkulosis paru (telah terdiagnosa oleh dokter Spesialis Penyakit Dalam sebagai penderita tuberkulosis kategori I sesuai P2TB). Besar sampel (n) minimal yang dipakai sesuai rumus Widodo: $(Z\alpha + Z\beta)^2 = (1,65 + 0,842)^2 = 6$, yang diambil secara tehnik random; masing-masing $6 \times 2 \times 10^5$ makrofag dari penderita tuberkulosis.¹⁶

Alur Penelitian

Penyiapan PBMC kultur makrofag dari darah tepi (penderita tuberkulosis paru)

Darah tepi yang diambil secara aseptik dari vena cubiti sebanyak ±10 ml dituang kedalam botol erlenmeyer yang berisi 10 glass beads berdiameter 2 mm (steril) ditambahkan 5 ml RPMI, defibrinasi dilakukan dengan cara mengocok hati-hati selama 10 menit, kemudian disentrifuse 900 x g selama 10 menit dalam suhu kamar. *Buffy coat* dipindahkan kedalam tabung streril kemudian didilusi 1:3 dalam larutan PBS,

kemudian disentrifus dalam histopaque (3:1 vol/vol) (sigma chemical co, st. Louis, Mo). Fraksi yang mengandung sel-sel monosit dipindahkan kedalam tabung sentrifus steril dan dibilas dengan larutan PBS 2x. Viabilitas sel monosit ditentukan menggunakan tryphan blue exclusion (≥ 95%). Persentase sel monosit ditentukan dengan menggunakan pewarnaan wright pada hapusan sediaan hasil sentrifugasi pada 40 x g selama 5 menit. Sel-sel monosit (10⁶/ml) dikultur dalam medium RPMI 1640 (Gibco), PH 7,2 mengandung 25 mM HEPES dan L-glutamine tanpa serum dan antibiotika.¹⁷

Persiapan maturasi monosit menjadi makrofag (*in vitro*):

Dua ratus mikroliter suspensi sel-sel monosit ± 2×10^5 diteteskan kedalam sumuran 24-*flat bottom well plates* dengan dasar diletakkan coverslip diameter 15 mm (Nunc), kemudian diinkubasi selama 30-60 menit pada 37°C dan 5% CO₂, kemudian ditambahkan 1 ml medium RPMI 1640. Setelah diinkubasi 24 jam, dilakukan pencucian dengan PBS ± 5x untuk memisahkan dengan limfosit kemudian pada serum ditambahkan 5% serum manusia yang telah diinaktivasi dengan pemanasan 56°C selama 30 menit. Kemudian diinkubasi selama 1-6 hari, untuk sel monosit yang tidak melekat dibilas dengan PBS 7 x pada 37°C (untuk menghindari diferensiasi lanjut dari sel monosit). Pada sel makrofag (sel yang melekat pada coverslip dalam sumuran) ditambahkan 500 µl RPMI 1640 (+ 5% serum manusia yang telah diinaktivasi) dan 100 µl Penicillin (sigma) persumuran.^{18,19}

Penyiapan suspensi *Mycobacterium tuberculosis*

Koloni *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC-27294 umur 3 – 4 minggu pada media Lowenstein-Jensen (L-J) diambil 1 (satu) ose (diameter 2 mm) disuspensikan ke dalam 5 ml medium RPMI (+ 3 % gliserin + 10 % serum HIPHS) dalam tabung + glass beads (diameter 2 mm; 6 – 8 beads), vortex sampai homogen, kemudian dibiarkan 30 menit (*settle*), sehingga bagian gumpalan kasar dibawah. Bagian atas kandungan

Mycobacterium tuberculosis setara $7,5 \times 10^5$ per ml (S) diambil 0,2 ml disuspensikan dalam 3,8 ml RPMI (S1) diperoleh kandungan *Mycobacterium tuberculosis* setara dengan $1,5 \times 10^5$ CFU/ml; untuk persiapan 200 μ l ($1,5 \times 10^5$ CFU) ditambahkan kedalam setiap sumuran (kelompok perlakuan); satu set eksperimen dengan suspensi *Mycobacterium tuberculosis* yang sama (*a single batch of mycobacteria*)

Penyiapan Propolis

Enam mililiter Propolis platinum mengandung 3,60 ml *Standarized Purified Propolis Resin* 60%.

Propolis dengan konsentrasi 60% yang akan digunakan difilter dengan menggunakan filter injeksi kemudian 1000 μ l propolis dilarutkan dalam 9.000 μ l aquades steril dan untuk mendapatkan konsentrasi 60 μ g/ml, propolis yang telah larut dalam air ditambahkan pada media RPMI yang telah mengandung 10% *Heat Inactivated Human Serum* dengan volume 50 μ l untuk setiap ml medium.¹⁵

Pengukuran produksi IL-12

Pengukuran produksi IL-12 dari supernatan kultur yang diamati, menggunakan kit komersial ELISA (RayBio Human IL-12 (P70)), dikerjakan dan diukur level produksinya sesuai prosedur¹⁹

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji statistik ANOVA dilanjutkan dengan LSD sehingga diketahui adanya perbedaan sekresi interleuki 12 diantara kelompok-kelompok perlakuan.

HASIL

Data hasil uji sekresi interleukin diperoleh dengan memeriksa supernatan kultur makrofag dari kelompok sampel. Kultur makrofag dari penderita tuberkulosis diberikan intervensi propolis, 24 jam kemudian diberikan

intervensi *Mycobacterium tuberculosis*. Pengukuran dengan tehnik ELISA menggunakan kit komersial ELISA (RayBio Human IL-12 (P70)) dikerjakan 48 jam setelah intervensi *Mycobacterium tuberculosis*.

Hasil Uji Interleukin 12 pada Konsentrasi Standar

Sebelum dilakukan uji ELISA terhadap sampel yang dalam penelitian ini berupa supernatan kultur makrofag maka terlebih dahulu diuji standars ELISA Interleukin 12 ini. Prosedur pengujiannya sesuai dengan buku petunjuk RayBio Human IL-12 (P-70). Dengan konsentrasi awal yang diketahui kemudian dilakukan uji ELISA sehingga diketahui absorbance dari standars, kemudian bisa dibuat grafik untuk konsentrasi dan absorbance Standar. Uji ELISA untuk standars ini perlu dilakukan untuk mengetahui kelayakan uji ELISA untuk sampel-sampel berikutnya.



Gambar 1. ELISA sumur-sumur standar (7 sumur pertama) dan 1 sumur sampel (1 sumur terakhir). Secara kualitatif menunjukkan hasil positif (warna kuning sampai kuning muda)

Gambar 1 memperlihatkan ELISA sumur-sumur standars sebagai dasar untuk pengukuran konsentrasi Interleukin 12. Tampak 7 sumur untuk standars serta 1 sumur sampel menunjukkan warna kuning dengan intensitas yang berbeda-beda serta mengabsorpsi cahaya pada 450 nm. Warna kuning dengan intensitas paling kuat (sumur paling kiri), setelah dilakukan pembacaan secara kuantitatif dengan ELISA *reader* memiliki konsentrasi interleukin 12 yang paling besar.

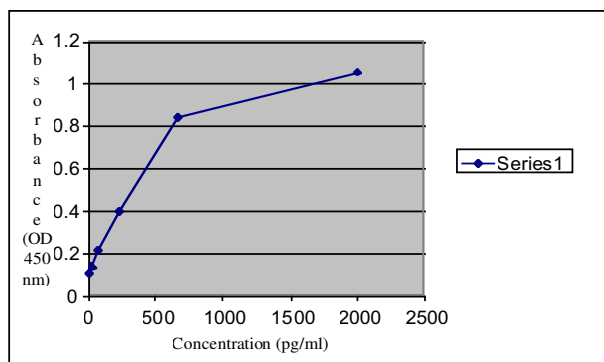
Tabel 1 menyajikan data hasil absorbance dari standars Interleukin 12 yang diuji ELISA dimana

konsentrasi untuk standars sudah diketahui sebaelumnya dari buku petunjuk RayBio Human IL-12 (P-70).

Tabel 1. Nilai absorbance (OD = 450 nm) interleukin 12 yang diperoleh dari uji ELISA terhadap berbagai konsentrasi (ng/ml) standars interleukin 12

Standars	Konsentrasi (pg/ml)	Absorbance (OD = 450 nm)
A	2000	1,056
B	666,6	0,837
C	222,2	0,401
D	74,07	0,213
E	24,69	0,135
F	8,23	0,106
G	0	0,094

Kurva standar menunjukkan hubungan searah antara *Optical Density* (OD) dengan konsentrasi interleukin 12, dimana sampel yang memiliki OD yang lebih tinggi akan memiliki konsentrasi interleukin 12 yang lebih tinggi pula (sesuai RayBio Human IL-12 (P-70))



Gambar 2. Kurva standar interleukin 12. Tampak hubungan searah antara OD (*Optical Density*) dengan konsentrasi interleukin 12

Pengukuran yang dilakukan dengan ELISA *reader* dibaca pada 450 nm, sehingga didapatkan hasil berupa nilai absorbancenya. Selanjutnya konsentrasi bisa dihitung dengan cara manual dengan menggunakan bantuan kurva standars (gambar 2) dimana dari nilai absorbance yang diperoleh ditarik garis vertikal kebawah (arah axis X) sehingga diperoleh konsentrasi interleukin 12.

Pengelompokan Sampel Supernatan kultur Makrofag dari penderita Tuberkulosis Paru Berdasarkan Perlakuan serta Konsentrasi Interleukin 12 (pg/ml).

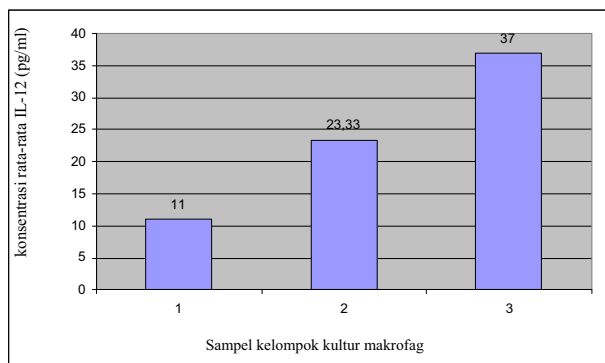
Pada penelitian ini terdapat 3 kelompok perlakuan dengan masing-masing 6 ulangan untuk tiap kelompok yang ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji interleukin 12 pada kelompok sampel supernatan kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru berdasarkan perlakuan

KLP (pg/ml)	Kons.IL-12 rata-rata (pg/ml)	Kons. IL-12	Inf. <i>M tb</i>	Intervensi propolis
1,1	8			
1,2	7			
1,3	6			
1,4	7			
1,5	6			
1,6	7	11	(-)	(-)
2,1	22			
2,2	24			
2,3	24			
2,4	23			
2,5	24			
2,6	23	23,33	(-)	(-)
3,1	36			
3,2	37			
3,3	38			
3,4	36			
3,5	38			
3,6	37	37	(+)	(+)

Keterangan tabel 2

- Kelompok 1 (1,1 s/d 1,6) merupakan kelompok kultur makrofag tanpa infeksi *M tuberculosis* dan tanpa intervensi propolis.
- Kelompok 2 (2,1 s/d 2,6) merupakan kelompok kultur makrofag yang diinfeksi *M tuberculosis* namun tanpa intervensi propolis.
- Kelompok 3 (3,1 s/d 3,6) merupakan kelompok kultur makrofag yang diinfeksi *M tuberculosis* dan diintervensi propolis.



Gambar 3. Grafik balok nilai konsentrasi IL-12 (pg/ml) pada sampel kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru

Pada grafik balok diatas, pada axis (X) terdapat 3 kelompok balok yaitu:

- (1). Kelompok kultur makrofag yang tidak diinfeksi *M tuberculosis* dan tidak diintervensi propolis.
- (2). Kelompok kultur makrofag yang diinfeksi *M tuberculosis* namun tidak diintervensi propolis.
- (3). Kelompok kultur makrofag yang diinfeksi *M tuberculosis* dan diintervensi propolis.

Pada penelitian ini terdapat 3 kelompok perlakuan dengan masing-masing 6 replikasi. Data konsentrasi yang diperoleh kemudian dianalisis dengan uji statistik *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan uji F pada taraf nyata 5%. ANOVA digunakan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan antara masing-

masing kelompok perlakuan terhadap konsentrasi interleukin 12. Hasil analisis yang bermakna dilanjutkan dengan uji *Least Square Difference* (LSD).

Perbandingan antara Ketiga Kelompok Perlakuan terhadap Konsentrasi Interleukin 12 dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) yang Dilanjutkan dengan Uji *Least Square Difference* (LSD).

Data ketiga kelompok sebelumnya diuji normalitasnya dan didapatkan data ketiga kelompok berdistribusi normal karena $p > 0,05$. Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa sekresi interleukin 12 dari kultur makrofag penderita tuberkulosis yang diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* antara yang diintervensi propolis dengan tanpa intervensi propolis menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna karena $p < 0,05$ ($F=2019,918$ dan $p=0,000$), seperti yang disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji ANOVA

Kelompok	Mean (X)	SD	Anova
1	6,8333	$7,5277 \times 10^{-2}$	F = 2019,918
2	23,3333	$8,1650 \times 10^{-2}$	P = 0,000
3	37,0000	$8,9443 \times 10^{-2}$	

Kesimpulan: $p < 0,05$, H_0 ditolak; berarti ada perbedaan sekresi interleukin 12 antara ketiga kelompok

Hasil ANOVA yang menunjukkan adanya perbedaan sekresi interleukin 12 antara ketiga kelompok dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (*Least Significant Different /LSD*).

Tabel 4. Perbandingan sekresi interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis dengan yang diintervensi propolis

Propolis	Konsentrasi IL-12 (pg/mL) Infeksi <i>M tb</i> (+)	LSD
(+)	37,00	d=13,667 p=0,000
(-)	23,33	

Perbandingan konsentrasi Interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis dengan yang diintervensi propolis menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Perbandingan konsentrasi Interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis dengan yang diintervensi propolis menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Tabel 5. Perbandingan konsentrasi interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis dengan yang diintervensi propolis menunjukkan perbedaan yang bermakna

Infeksi <i>M tb</i>	Konsentrasi IL-12 (pg/mL) Propolis (-)	LSD
(+)	23,33	d=16,500 p=0,000
(-)	6,83	

Perbandingan konsentrasi Interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis dengan yang tidak diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Perbandingan konsentrasi Interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis dengan yang diintervensi propolis menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Tabel 6. Perbandingan sekresi interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* dan intervensi propolis dengan tanpa infeksi *Mycobacterium tuberculosis* dan intervensi propolis

Propolis	Konsentrasi IL-12 (pg/mL) / Infeksi <i>M tb</i> (+) /	LSD
(+)	37,00	d=30,167 p=0,000
(-)	6,83	

Perbandingan konsentrasi Interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* dan intervensi propolis dengan tanpa infeksi *M tuberculosis* dan intervensi propolis menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Perbandingan konsentrasi Interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis dengan yang tidak diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis menunjukkan perbedaan yang bermakna.

PEMBAHASAN

Perbandingan sekresi Interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis dengan yang diintervensi propolis

Perbandingan konsentrasi Interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis dengan yang diintervensi propolis menunjukkan konsentrasi interleukin 12 lebih tinggi pada kelompok kultur makrofag yang diinfeksi *M tuberculosis* dan intervensi propolis dibandingkan dengan yang diinfeksi *M tuberculosis* tanpa diintervensi propolis perbedaan yang bermakna ($p=0,000$).

Hal ini sesuai dengan Castaldo dan Caspasso, 2002, dimana propolis mampu meningkatkan aktivitas fagositosis yang merupakan signal awal untuk memproduksi sitokin seperti yang disebutkan Orsi *et al.* 2000 bahwa propolis mengaktifasi sel-sel imun yang memproduksi sitokin yang dalam penelitian ini termasuk makrofag dalam memproduksi interleukin 12. Jadi dalam penelitian ini adanya intervensi propolis pada kultur sel makrofag memacu aktivitas fagositosis yang kemudian diikuti produksi interleukin 12.

Perbandingan sekresi interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis dengan yang tidak diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis

Perbandingan konsentrasi Interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis dengan yang tidak diinfeksi *M tuberculosis* tanpa intervensi propolis menunjukkan konsentrasi interleukin 12 lebih tinggi pada kelompok kultur makrofag yang diinfeksi *M tuberculosis* dibandingkan dengan yang tidak diinfeksi *M tuberculosis* dengan perbedaan yang bermakna ($p=0,000$).

Hal ini sesuai dengan teori bahwa infeksi oleh *M tuberculosis* akan merangsang makrofag teraktivasi untuk mensekresikan interleukin 12 sebagai awal regulasi respon imun serta disebutkan bahwa *Mycobacteri* dan *Mycobacterial product* adalah *inducer*

paling kuat untuk sekresi interleukin 12.^{20,21} Jadi pada penelitian ini adanya intervensi berupa infeksi *M tuberculosis* pada kultur makrofag yang kemudian diikuti fagositosis *M tuberculosis* oleh makrofag merupakan signal poten untuk produksi interleukin 12 oleh makrofag teraktivasi, dimana komponen pada LAM (PILAM_s dan LM) yang menyusun dinding sel *M tuberculosis* merupakan salah satu faktor eksternal yang dapat merangsang *activated* makrofag memproduksi interleukin 12.^{1,22,23}

Perbandingan sekresi interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* dan intervensi propolis dengan tanpa infeksi *M tuberculosis* dan intervensi propolis

Tabel 7. Perbandingan sekresi IL-2 antara kelompok kultur makrofag

Propolis / Infeksi <i>M tb</i>	Konsentrasi IL-12 (pg/mL)	LSD
(+) / (+)	37,00	d=30,167
(-) / (-)	6,83	p=0,000

Perbandingan konsentrasi interleukin 12 antara kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* dan intervensi propolis dengan tanpa infeksi *M tuberculosis* dan intervensi propolis menunjukkan konsentrasi interleukin 12 pada kelompok kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis* dan intervensi propolis jauh lebih tinggi dibandingkan tanpa infeksi *M tuberculosis* dan intervensi propolis dengan perbedaan yang bermakna ($p=0,000$).

Pada penelitian ini ada dua *inducer* untuk produksi interleukin 12 yaitu *M tuberculosis* dan propolis. Jadi dengan adanya kedua *inducer* poten tersebut

maka aktivitas makrofag menjadi meningkat dimana hal ini bisa dilihat salah satunya dari sekresi interleukin 12 yang meningkat. Menurut Scheller *et al.*²⁴ memperkirakan aktivitas imunostimulan dari propolis kemungkinan dihubungkan dengan aktivasi makrofag dan meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag, yang kemudian bisa diikuti produksi sitokin termasuk interleukin 12.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan propolis dapat meningkatkan aktivitas makrofag dengan meningkatkan sekresi interleukin 12 pada kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *M tuberculosis*.

Perlu dilakukan penelitian selanjutnya mengenai pengaruh propolis terhadap respon imun secara *in vivo* pada model hewan tuberkulosis.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada Prof Dr dr Ni Made Mertaniasih, MS, SpMK atas bimbingannya dalam penelitian, Litbang FK Unud/RSUP Sanglah, Lab Patologi Klinik FK Unud/RSUP Sanglah, Lab TDC Unair Surabaya.

DAFTAR RUJUKAN

1. Crevel V, Tom HM, Ottenhoff, Jos WM. Innate immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinical microbiology review*. 2002.p.294-309.
2. World Health Organization.. Tuberculosis. Fact sheet number 104, 2004
3. Aditama TJ. Tuberculosis, diagnosis, terapi dan masalahnya. Jakarta: Laboratorium Mikrobiologi RSUP Persahabatan/ WHO Collaborating Center for TB; 2002.
4. Pablos-Mendez A, Raviglione MC, Laszlo A, Binkin N, Rieder HL, Bustreo F, et al. 1994 – 1997. Global surveillance for anti tuberculosis – drug resistance. *N Eng J Med* 1998;338:1641-9.
5. Pillai G, Fourie PB, Padayatchi N, Onyebujoh PC, McIlleron H, Smith PJ et al. Recent bioequivalence studies on fixed-dose combination anti-tuberculosis drug formulations available on the global market. *International Journal of Tuberculosis & Lung Disease* 1999;3:S309-16..
6. World Health Organization. World TB day 2003. Geneve: World Health Organization; 2003.
7. Joost J, Openheim. Cytokines. In: Tristram GP, Daniel PS, Abba IT. *Medical Immunology*. 10th ed. California; Elsevier: 2001.p.95-112.
8. Moharan PS, et al. Resistance to infection in mice with defect in the activities of mononuclear phagocytes and natural killer cells: effect of immuno modulator in beige mice and ⁸⁹Sr-Treated mice. *Infection and Immunity* 1982;37:1079-85.
9. Dimov. Immunomodulatory action of propolis. Influence on antiinfectious protection and macrophage function. *Apidologie* 1991;22:155-167
10. Miller LE. *Manual of laboratory immunology*. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1991.p.159-89.
11. Abbas AK, Litmann AH, Pober JS. Immunity to microbe. *Celluler and molecular immunology*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 2000.p.343-62.
12. Roitt. *Immunology*. 6th ed. New York: Mosby; 2001.
13. Challem J. Tuberculosis. *Medical Journals Document Value of Bee Propolis, Honey and Royal Jelly*. The Nutrition Reporter 2004.
14. Hegazi AG. Propolis an overview. *International symposium on apitherapy*; 1997, Cairo.
15. Orsi RO. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. *J Venom Anim Toxin* 2000;6(2):205-19.

16. Widodo JP. Metode penelitian dan statistik terapan. Jakarta: EGC; 1993.p.49-60.
 17. Zabaleta J, Arias M, Maya JR, and Garcia LF. Diminished adherence and/or ingestion of virulent *Mycobacterium tuberculosis* by monocyte-derived macrophages from patient with tuberculosis. Philadelphia: Lea & Febiger; 1998.p.359-68.
 18. Nan GJ, Richmond JF, Schlesinger A, Jennings EG, Lander ES, and Young RA. Human Macrophage activation programs induced by bacterial pathogens Philadelphia: Lea & Febiger; 2002.p.59-63.
 19. Portales-Peres DP, Varanda L, Layseca E, Fierro NA, de la Fuente H, Rosenstein Y, Gonzalez-Amoro R. Comparative and prospective study of different immune parameter in healthy subjects at risk for tuberculosis and in tuberculosis patient. *Clin Diag Lab Immun* 2002;9(2):299-307.
 20. JL. Immunology of tuberculosis and implications in vaccine development. *Tuberculosis Review* 2004;84:93-101.
 21. Ibelgauft. Tuberculosis. Available at: <http://www.copewith.cytokines.de/cope> cytokines and cells online. Accessed on August 2003.
 22. Fulton SA, Johnsen SF, Wolf DS, Sieburth, Boom. Interleukin-12 production by human monocytes infected with *Mycobacterium tuberculosis*: role of phagocytosis. *Infect Immun* 1996;64:2523-31.
 23. Dao DN. *Mycobacterium tuberculosis* lipomannan inducer apoptosis and interleukin-12 production in macrophages. *Infection and Immunity Journals* 2004;72(4):2067-74.
 24. Scheller S, Gadza G, Pietsz G, Gabrys J, Szumlas J, Eckert L, Shani J. The ability of ethanol extract of propolis to stimulate plaque formation in immunized mouse spleen cells. *Pharmacol Res Commun* 2003;45:323-8.
-