

STUDI KEBERADAAN SENYAWA BIOAKTIF IMUNOSUPRESAN PADA EKSTRAK TESTIS SAPI BALI (*Bos sondaicus*) MELALUI UJI *IN VITRO*

Sri Nopita Primawati

Program Studi Pendidikan Biologi FPMIPA IKIP Mataram Indonesia

E-mail : srinopitaprimawati@ikipmataram.ac.id

ABSTRAK: Telah dilakukan penelitian tentang Studi Keberadaan Senyawa Bioaktif Imunosupresan pada Ekstrak Testis Sapi Bali (*Bos sondaicus*) melalui Uji *In Vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pemberian senyawa bioaktif imunosupresan yang telah diekstrak dari testis sapi terhadap penghambatan proliferasi sel limfosit. Efek senyawa imunosupresan ini dapat diamati dari proliferasi sel-sel limfosit *Mus musculus* terhadap penyuntikan (pemaparan) Ekstrak Testis Sapi Bali yang dipaparkan bersama atau tanpa concanavalin A (Con A, sebagai pemicu proliferasi sel limfosit) dan *Bovine Serum Albumin* (BSA) sebagai larutan standar. Penelitian ini dirancang dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) berfaktor. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ANOVA menggunakan uji-F. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penyuntikan Ekstrak Testis Sapi Bali yang dipaparkan bersamaan dengan BSA (ET+BSA) dapat meningkatkan proliferasi kultur sel limfosit mencit Balb/c secara *In Vitro* ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol dan pemaparan BSA dan Con A secara bersamaan selama 72 jam. Akan tetapi ketika dipaparkan tanpa Con A dan BSA, Ekstrak Testis Sapi Bali menekan (imunosupresi) proliferasi sel limfosit secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan pemaparan Con A.

Kata Kunci: Imunosupresan, Ekstrak Testis, Sapi Bali (*Bos sondaicus*), Proliferasi Sel Limfosit.

ABSTRACT: A study of the existence of Bioactive Immunosuppressant Compounds on Balinese Testis Extract (*Bos sondaicus*) through *In Vitro* Test. This study aims to study the provision of bioactive compounds immunosuppressant that has been extracted from cow testes against inhibition of lymphocyte cell proliferation. The effects of these immunosuppressant compounds can be observed from proliferation of *Mus musculus* lymphocytes cells to injections (exposure) of Bali Cow Testicular Extract exposed together or without concanavalin A (Con A, as a trigger for lymphocyte cell proliferation) and *Bovine Serum Albumin* (BSA) as standard solution. This research was designed with Completely Randomized Design (RAL). The data obtained were analyzed by ANOVA analysis using F-test. The results of this study indicate that injection of Balinese Cervical Test Extract exposed simultaneously with BSA (ET + BSA) can increase the proliferation of Balb / c lymphocyte cell culture in *In Vitro* ($p < 0.05$) compared with control and exposure of BSA and Con A together for 72 hours. However, when exposed without Con A and BSA, the Bali Cattle Testicular Extract significantly suppressed (immunosuppressed) lymphocyte cell proliferation ($p < 0.05$) compared with exposure to Con A.

Keywords: Immunosuppressant, Testis Extract, Balinese Cow (*Bos sondaicus*), Lymphocyte Cell Proliferation.

PENDAHULUAN

Penelitian awal cangkok jaringan yang diletakkan di testis (di antara tubulus seminiferus), memperlihatkan bahwa cangkok jaringan itu dapat bertahan lama tanpa penolakan. Hal ini jauh berbeda apabila dicangkokkan dibagian tubuh yang lain seperti pada kulit. Fenomena ini telah menarik para peneliti untuk mengetahui kenapa cangkokkan tersebut tidak ditolak.

Banyak penelitian dilakukan untuk mengetahui penyebab kenapa cangkokkan tersebut tidak ditolak. Hipotesis kuat yang

berkembang dan sedang diuji saat ini adalah adanya suatu faktor yang diproduksi atau disekresikan di dalam testis yang mampu menghambat kerja sistem imun (senyawa imunosupresan) di daerah ini (Maddock and Setchell, 1990). Menurut Depamede (1995) senyawa imunosupresan dapat ditemukan pada ekstrak testis. Hal ini didukung oleh Pollanen *et al* (1989) yang menyatakan bahwa testis sapi dapat digunakan sebagai salah satu sumber bahan bioaktif imunosupresan yang potensial.



Namun penelitian lebih lanjut tentang potensi testis sapi ini tidak banyak dilaporkan, penelitian lebih banyak difokuskan pada testis hewan-hewan rodensia dan monogastrik. Oleh karena itu penelitian ini harus dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pemberian ekstrak testis sapi Bali terhadap penurunan jumlah sel-sel imun pada mencit Balb/c. Diharapkan jika terjadi penurunan sel-sel imun pada mencit Balb/c disebabkan oleh adanya senyawa bioaktif immunosupresan.

Penelitian ini menggunakan testis sapi Bali karena melihat potensi sapi Bali sebagai sapi pedaging dan ternak kerja dan di sisi lain sapi Bali merupakan salah satu plasma nutfah bangsa Indonesia. Sedangkan potensi lainnya belum banyak diteliti sebagai sumber bahan bioaktif. Pada industri sapi potong, testis secara umum diketahui sebagai hasil sisa, bukan menjadi bagian produk yang memiliki nilai ekonomi tinggi.

Sapi Bali banyak dternakan di Indonesia karena potensinya sebagai sapi pedaging dan ternak kerja. Namun, potensi lainnya belum banyak diteliti, seperti sebagai salah satu sumber bahan bioaktif. Padahal kemungkinan untuk itu ada mengingat testis sapi pernah dinyatakan sebagai salah satu sumber bahan bioaktif immunosupresan yang potensial (Pollanen et al, 1989). Sayangnya penelitian lebih lanjut tentang potensi testis sapi ini tidak banyak dilaporkan, penelitian lebih banyak difokuskan pada testis hewan-hewan rodensia dan monogastrik.

Bahan immunosupresan memiliki nilai strategis dibidang cangkok jaringan, yakni sebagai obat yang dapat menghambat penolakan organ yang dicangkokkan. Obat-obat immunosupresan saat ini sudah banyak beredar, namun yang memberi nilai optimalisasi masih terbatas.

Oleh karena itu perlu ditemukannya sumber bahan immunosupresan alternatif lain.

Salah satu alternatif itu dapat berasal dari testis sapi Bali yang sampai saat ini belum pernah diteliti. Selain untuk kepentingan cangkok jaringan, penemuan dan pemahaman tentang adanya immunosupresan pada testis sapi Bali akan bermamfaat dalam mempelajari peranan fisiologis keberadaan immunosupresan ini pada testis sapi Bali.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Ekstrak Testis

Testis dicuci dengan larutan saline steril dan disterilkan dengan alkohol. Kemudian dikeluarkan dari skrotum (didekapsulasi) menggunakan gunting dan pinset steril. Setelah didekapsulasi testis dipotong-potong menggunakan gunting, dan ditimbang. Potong-potongan testis dicampurkan dengan PBS (Phosphat Buffered Saline) dingin kemudian diblender.

Mengisolasi Sel-sel Limfosit

Mencit dibunuh dengan cara memberikan alkohol di mulut dan hidung sampai lemas dan mati, kemudian diambil limpanya. Limpa mencit di tekan dan ditambahkan saline steril dengan tujuan mengeluarkan semua sel darah. Kemudian cairan darah tersebut di kultur pada medium RPMI 1640 yang disuplementasi dengan protein serum dan antibiotik. Kultur sel kemudian diinkubasikan pada dalam inkubator dengan kandungan CO₂ sebesar 5%.

Pengamatan Sel-sel Limfosit

Untuk menghitung jumlah total sel limfosit yang terdapat di dalam darah, sel-sel darah merah harus dilisiskan terlebih dahulu. Untuk itu darah yang telah ditampung dicampurkan dengan larutan trifen blue yang berfungsi selain untuk mengecat sel limfosit dan berfungsi juga untuk melisiskan sel-sel darah merah. Total sel sel limfosit dihitung menggunakan kamar hitung improved Neubauer haemocytometer. Daerah yang



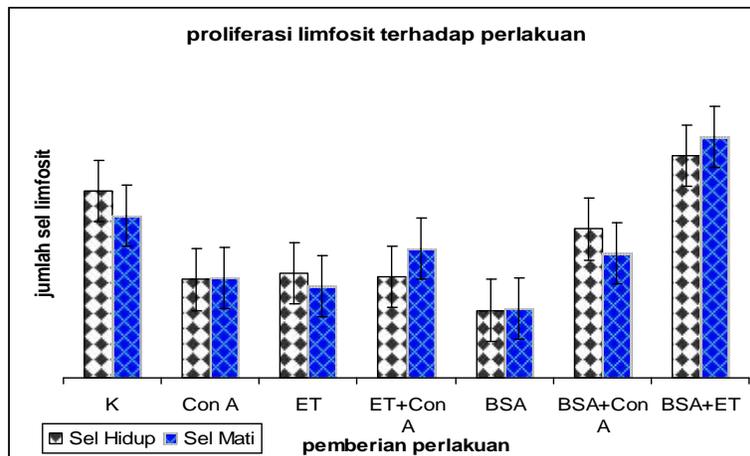
dibaca adalah kotak besar dibagian pojok dari kamar hitung (L1, L2, L3 dan L4). Penghitungan dimulai dari sudut kiri atas, terus ke kanan kemudian turun ke bawah dan dari kanan ke kiri. Lalu turun lagi ke bawah dan dimulai lagi dari kiri ke kanan (Gandasoebrata, 1978).

Untuk menghindari duplikasi penghitungan ada beberapa sel sel limfosit yang boleh dihitung atau tidak. Hal ini berdasarkan posisi atau letak sel sel limfosit pada garis batas. Sel-sel yang menyinggung garis batas bawah sebelah kiri atau garis atas, harus dihitung. Sebaliknya sel-sel sel limfosit yang menyinggung garis batas sebelah kanan atau bawah tidak boleh dihitung (Gandasoebrata, 1978).

PEMBAHASAN

Total populasi sel limfosit yang diamati selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 1 yang menunjukkan perbedaan total sel limfosit antar perlakuan dan kontrol. Dari grafik ini dapat dilihat bahwa pemaparan ET dengan Con A atau BSA memberikan respon mempercepat ploriferasi sel limfosit dengan jumlah total sel limfosit yang sangat tinggi.

Hal ini sangat terlihat jelas ketika pemaparan ET dan BSA, pemberian BSA ini bertujuan untuk memblok protein pada permukaan sel sel limfosit sehingga respon yang diberikan hanya disebabkan oleh ET bukan disebabkan oleh faktor lain (protein lain). Jadi ET bersifat mempercepat ploriferasi sel limfosit, bekerja sama dengan BSA dan Con A sehingga jumlah sel limfositnya tinggi.



Gambar 1. Grafik Pengaruh Penyuntikan Ekstrak Testis Sapi Bali terhadap Proliferasi Sel Limfosit pada 72 Pasca Penyuntikan.

Pembelahan atau proliferasi sel B dan sel T dapat dipacu secara *in vivo* maupun *In Vitro* antara lain oleh Lipopolisakarida (LPS) bakteri untuk sel B dan Concanavalin A (Con A) untuk sel T (Tizard, 1995). Sel T yang dipacu akan menghasilkan senyawa interleukin seperti interleukin 2 (IL-2) yang mampu merangsang sel-sel T yang ada

disekitarnya untuk berproliferasi, demikian seterusnya (Tizard, 1995). Pemaparan ET dan Con A memberikan respon meningkatkan ploriferasi sel limfosit namun tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kontrol dan ET. Hal ini menunjukkan bahwa Con A tidak terlalu aktif pada waktu pemaparan yang lama atau



Con A hanya memperlihatkan repon imun cepat. Untuk melihat respon Con A harus ditambahkan waktu pemaparan dengan respon imun cepat (3 jam dan 24 jam).

Jika ET dipaparkan sendiri tanpa Con A dan BSA dapat menunjukkan respon menghambat proliferasi sel limfosit (imunopresan) secara signifikan ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ET memiliki sifat imunopresan dan dapat digunakan sebagai senyawa bioaktif imunopresan. Imunopresan akan menghentikan atau menghambat pembentukan IL-2 dari setiap sel sel limfosit yang melakukan pembelahan. Dengan menghambat pembentukan IL-2 maka sel-sel sel limfosit tidak akan berproliferasi sehingga jumlahnya akan sama bahkan lebih rendah dibandingkan kontrol. Hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh selama pengamatan ET, bahwa penghambatan proliferasi ET signifikan terhadap kontrol, BSA dan ET.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat diambil kesimpulan Pemaparan ekstrak testis (ET) sapi Bali yang dicampurkan dengan *Bovine Serum Albumin* (BSA) meningkatkan proliferasi total sel limfosit mencit Balb/c selama 72 jam, dibandingkan dengan kontrol (perlakuan dengan saline saja) dan ET (perlakuan dengan ekstrak testis saja). Terdapat senyawa imunopresan pada ekstrak testis sapi Bali yang mampu menghambat proliferasi sel limfosit pada 72 jam. Respon imunopresan yang diberikan ET sapi Bali tidak terlihat jika dipaparkan bersamaan dengan BSA atau Con A. Hanya dapat menghambat proliferasi sel limfosit jika terpapar sendiri (tanpa campuran). Ini memberikan dugaan bahwa senyawa imunopresan yang terdapat pada ET sapi Bali bukan dari golongan TGF- namun berasal dari golongan lain. Sehingga perlu dilakukan penelitian yang lebih spesifik.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan ekstrak testis sapi Bali yang dimurnikan. Penelitian dilakukan secara *In Vivo* maupun *In Vitro*.

DAFTAR RUJUKAN

- Depamede, S., N., and Maddock S. 1995. *Characterization of 1-5 kDa Immunosuppressive Factors From The Rat Testis*. *Australasian Society for Immunology, Meeting Handbook*, p.22. Abst. 198.
- Gandasoebrata, R. 1978. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Maddock, S., and Setchell, B.P. 1990. *Recent Evidence for Immune Privilege In The Testis*, *Journal. Reprod. Immun.*, 18:9-18.
- Pollanen, P., Soder, O., Uksila, J., Nikula, H., Kaipia, A., Kangasniemi, M., Punnonen, J., Huhtamem, I., Parvinen, M. 1989. *Testicular Immunosuppressive*. *Proceeding IVth Int. Cong. Androl.* Monduzl Editor, Bologna, pp. 177 - 182.
- Tizard, I. 1988. *Pengantar Immunologi Veteriner*, Edisi Ke-2. Surabaya: Airlangga University.

