

ABSTRAK

EFEK IMUNOMODULASI SENYAWA FLAVONOID KENCUR (*Kaempferia galanga* Linn) TERHADAP KEMAMPUAN MIKROBISIDAL SEL NETROFIL SECARA *IN VITRO*

Gusti Revilla * Erly Indrama ** Yanwirasti *

Labor Anatomi * Labor Mikrobiologi ** Fak. Kedokteran UNAND

Kata Kunci. Mikrobisidal Stimulator Supresor Netrofil

Penelitian efek imunomodulasi flavonoid kencur (*Kaempferia galanga* Linn) yang telah dilakukan adalah terhadap kemampuan fagositosis (penelanan) secara *in vitro* dan *in vivo*. Hasil penelitian secara *in vitro* terhadap kemampuan fagositosis (penelanan) netrofil setelah diberi flavonoid kencur diketahui bahwa senyawa tersebut mampu menekan kemampuan fagositosis pada konsentrasi 100 µg/ml sampai 200 µg/ml. Untuk itu dilanjutkan penelitian terhadap kemampuan proses fagositosis lainnya yaitu pembunuhan mikroba dengan menggunakan metode mikrobisidal assay. Prinsip metode ini adalah melihat kemampuan netrofil untuk membunuh/menghancurkan mikroba yang juga dapat membedakan fungsi penelanan dengan fungsi pembunuhan/penghancuran mikroba.

Subyek penelitian adalah sel netrofil yang berasal dari 10 orang dewasa sehat yang dipisahkan dari sel darah lainnya dengan menggunakan ficol. Netrofil dibagi atas 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan perlakuan. Kelompok kontrol mendapat perlakuan bahan pelarut yang dipakai untuk senyawa flavonoid. Kelompok perlakuan diberi senyawa flavonoid yang dibagi menjadi sub kelompok berdasarkan konsentrasi 1, 10 dan 100 µg/ml.

Kemampuan mikrobisidal netrofil setelah diberi senyawa flavonoid kencur dilihat dari hasil inkubasi netrofil dengan mikroba sehingga kemampuan mikrobisidal dan fagositosis (penelanan) dapat dihitung. Kemampuan penghancuran netrofil terhadap mikroba meningkat (stimulator) setelah mendapat perlakuan dengan konsentrasi secara berturut-turut 1 sampai 100 µg/ml dengan jumlah total mikroba yang terbunuh 3.98×10^4 , 3.61×10^4 dan 3.53×10^4 dibandingkan dengan kelompok kontrol yaitu 3.14×10^4 . Kemampuan fagositosis/penelanan netrofil meningkat setelah mendapat perlakuan pada konsentrasi 1 sampai 100 µg/ml yaitu 9.81×10^4 , 9.61×10^4 dan 8.91×10^4 dibandingkan dengan kelompok kontrol yaitu 8.89×10^4 . Secara statistik peningkatan kemampuan mikrobisidal (konsentrasi 1 sampai 100 µg/ml) dan fagositosis netrofil (konsentrasi 1 dan 10 µg/ml) terhadap mikroba yang bermakna pada $p=0.05$.

Hasil penelitian ini belum didapatkan konsentrasi maksimal peningkatan efek mikrobisidal dan fagositosis netrofil secara *in vitro* setelah diberi senyawa flavonoid kencur. Untuk itu dapat dianjurkan untuk mengungkapkan konsentrasi maksimal peningkatan (stimulator) senyawa flavonoid terhadap kemampuan mikrobisidal dan fagositosis secara *in vitro*. Hasil penelitian ini juga dapat dipakai sebagai dasar untuk menguji efek imunomodulasi lainnya seperti migrasi, proliferasi limfosit dan lainnya.

ABSTRACT

IMMUNOMODULATION EFFECT OF FLAVONOIDS KENCUR COMPOUND (*KAEMPFERIA GALANGA* LINN) TO THE VIABILITY ON MICROBYCIDAL NEUTHROPHIL *IN VITRO*

Gusti Revilla * Erly Indrama ** Yanwirasti *

Department of Anatomy * and Department of Microbiology,
Faculty of Medicine, Andalas University

Key Word. Mycrobicydal Stimulator Suppressor Neuthrophil

Immunomodulation effect of flavonoid *kencur* (*Kaempferia galanga* Linn) to the phagocytosis (ingestion) capability of neutrophil *in vitro*. The result was expressed as that flavonoid have suppressive of activity with concentration of 100 – 200 µg/ml respectively. Therefor study was conducted investigated effect of flavonoid compound of kencur an microbicydal viability of neutrophil *in vitro*. The principle of this method was to look at know elimination/killing of microba in neutrophil and the comparative ingestion and killing function of microba.

Neuthrophil as object experimental study was carried out to 10 samples from pheripheral blood of healthy person separated with ficoll from other blood cells. They are divided into experimental and control group. Experimental group which was treated with flavonoid was further divided into three subgroups with concentration of 1, 10 and 100 µg/ml respectively. Control group was treated with the solvent compound flavonoid.

Microbicydal of neutrophil was observed after incubating the cells with microba (*Staphylococcus aureus*) so that can to evaluate the killing and ingestion process. The microbicydal of neutrophil treated with flavonoid compound has stimulating effect to the killing capability *in vitro* with increasing concentration 1 to 100 µg/ml were 3.98×10^4 , 3.61×10^4 and 3.53×10^4 respectively that different from control group was 3.14×10^4 . The ingestion of neutrophil treated with flavonoid compound has stimulating effect on the phagocytosis (ingestion) capability of neutrophil *in vitro* with increasing concentration 1 to 100 µg/ml were 9.81×10^4 , 9.61×10^4 and 8.91×10^4 respectively that different control group (8.89×10^4). The result that flavonoid compound had immunostimulator effect on killing and ingestion capability of neutrophil with concentration 1 µg/ml and 100 µg/ml and has immunosuppressive effect on ingestion capability of neutrophil with concentration 100 µg/ml. Statically, microbicydal (concentration 1 to 100 µg/ml) and phagocytic effect (concentration 1 to 10 µg/ml) significantly stimulating of flavonoid compound ($p=0.05$).

It is concluded result accured at the maximal concentration of immunostimulator of flavonoid, and it is suggested that further investigation with maximal concentration of immunostimulator from compound. The result can also used as a basic the studies of other immunomodulation effects such as migration, proliferation of lymphocyte etc.

I. PENDAHULUAN

Imunomodulasi merupakan bahan yang dapat mempengaruhi kualitas dan intensitas respon imun. Respon imun dapat bersifat non spesifik (alamiah) dan spesifik (adaptif), dengan masing-masing efekturnya berupa humoral dan seluler (Weir, 1993; Stites, dkk. 1994). Sebagai efektor seluler dari respon imun non spesifik adalah sel fagosit yang terdiri atas sel fagosit mononuklear/makrofag dan polimorfonuklear/netrofil (Fundenber, 1980 ; Stites, dkk. 1994). Masing-masing sel fagosit akan melakukan fungsinya yaitu memfagositosis benda asing yang masuk ke dalam tubuh.

Fagositosis merupakan proses eliminasi/penelanan sampai penghancuran partikel asing yang masuk ke dalam tubuh. Proses fagositosis ada beberapa tahap yaitu pengenalan, migrasi, penelanan, degranulasi dan mikrobisidal atau interseluler killing. Semua tahap dari fagositosis ini dapat diuji kemampuannya secara *in vitro* (Fundenberg, 1980 ; Stites, dkk. 1994).

Kemampuan fagositosis dapat dimodulasi suatu bahan tertentu baik yang datang dari luar tubuh/ekstrinsik maupun dari dalam tubuh/intrinsik. Bahan ekstrinsik yang dapat mempunyai efek sebagai imunomodulasi dapat berupa obat-obatan, bahan kimia (Bellanti, 1993) atau dari bahan alam yaitu tanaman obat (Wagner, 1990). Kemampuan imunomodulasi dapat bersifat sebagai imunostimulan (meningkatkan) atau immunosupresi (menurunkan) kemampuan sistem imunitas tubuh (Stites, dkk. 1994).

Eksplorasi bahan imunomodulasi tanaman obat dapat dilakukan melalui 2 pendekatan yaitu secara etnofarmakognosi dan kemotaksonomi. Pendekatan secara etnofarmakognosi berarti memanfaatkan informasi empiris pemakaian tanaman obat pada daerah tertentu yang dapat dikaitkan dengan sistem imun, sedangkan pendekatan secara kemotaksonomi berarti mencari tanaman lain yang mengandung zat kimia sejenis dan terbukti mempunyai efek pada sistem imun (Subowo cit Labadie, 1994). salah satu tanaman yang telah diketahui secara empirik sebagai obat adalah kencur.

Kencur (*Kaempferia galanga* Linn) telah dikenal masyarakat Indonesia baik sebagai obat tradisional maupun sebagai bumbu masakan. Sebagai obat kencur

dipakai untuk mengobati penyakit diantaranya batuk, radang lambung dan bengkak (Astuti, dkk. 1994), dan penyakit tersebut dapat dikaitkan dengan sistem imun.

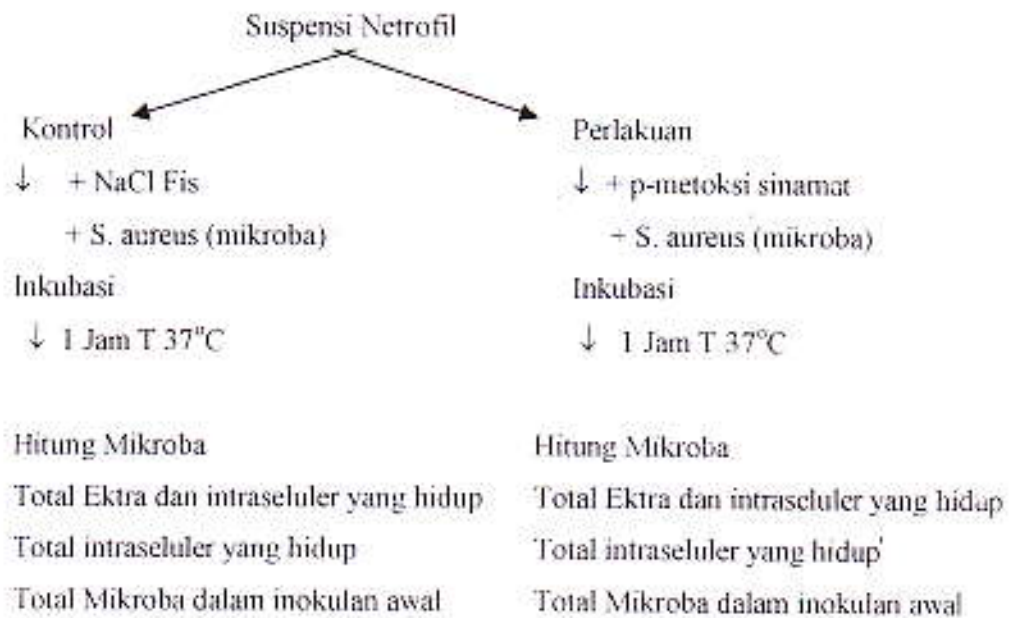
Berbagai penelitian efek biologi kencur dengan pelarut air telah dilakukan yaitu sebagai antibakteri (Sugondo, dkk. 1986), antiradang (Sugiarso, dkk. 1994) dan efek imunomodulasi ekstrak air dan ekstrak methanol terhadap kemampuan fagositosis secara *in vitro* (Gusti, dkk. 1996). Juga telah dilakukan penelitian efek imunomodulasi senyawa aktif kencur yaitu senyawa p-metoksi sinamat etil ester dan flavonoid terhadap kemampuan fagositosis secara *in vitro* dan *in vivo* (Gusti, dkk. 1998; Gusti, dkk. 2000). dari penelitian diketahui bahwa senyawa p-metoksi sinamat dan flavonoid dapat menurunkan kemampuan fagositosis khususnya proses penelanan baik secara *in vitro* maupun *in vivo* jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Penurunan kemampuan fagositosis dari kedua senyawa tersebut mungkin dapat dikaitkan dengan penggunaan obat immunosupresi diantaranya kortikosteroid, diketahui bahwa kortikosteroid dapat mengurangi kemampuan fagositosis pada tahap penelanan, migrasi dan mikrobisidal (Norris, dkk. 1982 ; Meuleman, dkk. 1985). Untuk itu dilanjutkan penelitian efek senyawa flavonoid terhadap kemampuan mikrobisidal atau interseluler killing sel netrofil secara *in vitro*.

Untuk menguji kemampuan mikrobisidal sel netrofil setelah diberi senyawa flavonoid digunakan metode mikrobisidal assay (Wagner, 1991). Prinsip metode ini adalah melihat kemampuan netrofil untuk membunuh/menghancurkan mikroba yang juga dapat membedakan fungsi penelanan dengan fungsi pembunuhan/penghancuran mikroba. Sel netrofil dipisahkan dari sel darah lainnya dengan menggunakan ficol dan sel netrofil harus dalam kondisi hidup. Sebagai indikator/mikrobanya biasanya digunakan bakteri *Staphylococcus aureus*, namun bakteri lain dapat dipakai yang didapat dari penderita diantaranya bakteri katalase negatif yang dapat membantu diagnosis akhir dari chronic granulomatous disease (CGD). *S. aureus* dipakai karena mikroba ini mudah didapatkan dan sering dipakai dalam penelitian (Bellanti, 1993).

Kemampuan mikrobisidal ini merupakan suatu proses yang multifase yang memerlukan integritas faktor ekstraseluler (komplemen dan antibodi sebagai opsonin) dan intraseluler (integritas metabolik yang utuh dari sel netrofil). Pemeriksaan ini berperan dalam pengujian disfungsi dari netrofil dan pada difrensiasi antibodi spesifik atau komplemen (Stites, dkk. 1994).

II. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian merupakan eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) dan dibagi atas 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Sebagai subyek penelitian adalah netrofil manusia sehat yang dipisahkan dari sel darah lainnya dengan menggunakan ficol.



2.1 Bahan yang Diperlukan

- Suspensi netrofil
- Senyawa flavonoid kencur
- Suspensi *Staphylococcus aureus*
- Serum

Suspensi Netrofil

Netrofil diperoleh darah manusia dari pembuluh vena sebanyak 10 ml dan diberi heparin. Darah yang didapatkan diencerkan dengan dektran T. 500 perbandingan 2:1, dibiarkan selama 30 menit. Supernatan yang telah didapatkan dimasukkan ke dalam tabung sentrifus yang telah berisi ficol, kemudian disentrifus

dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit, kemudian peletnya dicuci dengan RPMI sebanyak 2 kali. Sel netrofil yang didapatkan dihitung sebanyak 5×10^6 sel/ml.
Pembuatan Senyawa flavonoid

Flavonoid kencur dipisahkan dari senyawa lainnya dengan menggunakan metode Markham (1986). Pembuatan senyawa ini dilakukan di Laboratorium Kimia Bahan Alam FMIPA UNAND Padang. Senyawa flavonoid yang akan dipakai dalam eksperimen dilarutkan dengan NaCl fisiologis ditambahkan CMC pada beberapa konsentrasi yaitu 1, 10 dan 100 $\mu\text{g/ml}$. Kadar yang digunakan untuk setiap perlakuan adalah 100 μl .

Suspensi *Staphylococcus aureus*

- Kuman *S. aureus* didapatkan dari stock culture
- Kuman ditanam ulang ke agar darah dalam inkubator suhu 37°C selama 18 – 24 Jam
- Koloni kuman disuspensi dengan NaCl Fisiologis dan hitung kuman dengan menggunakan bilik hitung.
- Suspensi yang digunakan adalah 5×10^8 sel/ml.

Serum

Serum yang digunakan berasal dari darah yang sama dan dari serum yang sudah disimpan dalam free zeer (-20°). Serum dicampur dengan perbandingan 1:1.

Cara Kerja

- Pada donatur sebelum diambil darah diberikan informed consent dan dilakukan pemeriksaan darah rutin.
- Untuk kelompok perlakuan suspensi kuman 0.5 ml, 0.4 ml suspensi netrofil, 0.1 ml serum dan senyawa p-metoksi sinamat konsentrasi bertingkat yaitu 1, 10 dan 100 $\mu\text{g/ml}$ masukkan dalam tabung yang tertutup ulir sehingga tercampur dan untuk kelompok kontrol campuran lainnya sama tetapi senyawa p-metoksi sinamat diganti dengan NaCl fisiologis.
- Campuran dari dua kelompok tersebut di inkubasi dalam penangas air pada suhu 37°C selama 1 jam sambil digoyang-goyang.

- Setelah diinkubasi maka diambil 0.1 ml campuran tersebut ditambahkan 1.9 ml aquades. Buat pengenceran 10 kali secara serial lalu sebanyak 0.1 ml suspensi dengan pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} dibiakkan dalam media agar untuk mendapatkan jumlah total kuman hidup (intra dan ekstraselular). Hasil yang didapatkan merupakan jumlah kuman total yang hidup diberi kode C.
- Ke dalam tabung lain dimasukkan 0.1 ml suspensi awal ditambahkan lysostaphin 10 unit/ml lalu inkubasi dalam penangas air suhu $37^{\circ}C$ selama 20 menit. Setelah inkubasi masukan 0.1 ml tripsin 2.5% untuk menginaktivasi lysostaphin, lalu campuran diinkubasi kembali selama 10 menit. Buat pengenceran 10 kali secara serial dengan menggunakan aquades. Hasil yang didapatkan merupakan jumlah kuman total yang hidup diberi kode B.
- Untuk mendapatkan jumlah kuman hidup dalam inokulum awal sebanyak 0.5 ml suspensi kuman dicampur dengan 0.5 ml TCI 199. Buatlah pengenceran serial 10^{-4} sampai 10^{-6} , lalu sebanyak 0.1 ml dari masing-masing suspensi dibiakkan. Lempeng agar diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ dalam inkubator selama 18 – 24 jam, lalu jumlah koloni dihitung. Jumlah koloni yang dipakai untuk penghitungan adalah berasal dari pengenceran tertinggi. Hasil yang didapatkan merupakan jumlah kuman total yang hidup diberi kode A.
- Penghitungan dibuat dengan rumus:

$$D = A - C$$

$$E = B + D$$

Keterangan :

A= Jumlah mikroba dalam inokulum awal

B= Jumlah kuman intraseluler yang hidup

C= Jumlah kuman intra dan ekstraseluler yang hidup

D= Jumlah kuman intraseluler yang terbunuh

E= Jumlah kuman yang terfagositosis

Analisa Data

Untuk membedakan kemampuan efek mikrobisidal sel netrofil antara kelompok perlakuan dan kontrol digunakan t-test.

III. HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian terhadap efek imunomodulasi senyawa flavonoid kencur (*Kaempferia galanga* Linn) terhadap kemampuan mikrobisidal sel netrofil dari 10 orang dewasa sehat didapatkan bahwa flavonoid kencur memberikan efek sebagai imunomodulasi. Kemampuan imunomodulasi senyawa flavonoid ini dapat dilihat pada tabel 4.1 dan 4.2.

Efek imunomodulasi yang diberikan oleh senyawa flavonoid kencur pada penelitian ini ada yang bersifat positif (stimulator= meningkatkan kemampuan efek mikrobisidal dan proses fagositosis/penelanan) pada kelompok perlakuan 1 sampai 3 (konsentrasi 1 sampai 100 µg/ml). Kemampuan imunomodulasi senyawa flavonoid ini dapat dilihat pada tabel 4.1 dan 4.2. Pada tabel terlihat bahwa jumlah total kuman (*Staphylococcus aureus*) yang terbunuh dan jumlah kuman yang terfagositosis pada kelompok perlakuan 1 sampai 3 jumlah mikroba yang terbunuh yaitu 3.98×10^4 , 3.61×10^4 dan 3.53×10^4 dan terfagositosis lebih tinggi yaitu 9.81×10^4 , 9.61×10^4 dan 8.89×10^4 dibandingkan kelompok kontrol yaitu 3.14×10^4 atau 8.89×10^4 .

Hasil analisa statistik terhadap jumlah total kuman yang terbunuh dan kuman yang tertelan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1 dan 2 yang diberi senyawa flavonoid kencur pada $p=0.01$

Tabel 4.1 Jumlah *Staphylococcus aureus* yang terbunuh oleh netrofil setelah diberi senyawa flavonoid kencur (*Kaempferia galanga* Linn) dengan peningkatan konsentrasi

No	Σ mikroba yang terbunuh pada kelompok (10^4)			
	Kontrol	P ₁	P ₂	P ₃
1	.08	.19	.46	.07
2	.11	.31	.26	.11
3	.39	.19	.14	.26
4	.24	.34	.10	.14
5	.11	.60	.22	.46
6	.29	.36	.43	.39
7	.61	.53	.70	.74
8	.26	.55	.69	.65
9	.90	.60	.31	.51
10	.15	.31	.30	.31
Σ	3.14	3.98	3.61	3.53

Keterangan.

- Kontrol = Diberi NaCl fisiologis
P₁ = Diberi senyawa flavonoid konsentrasi 1 µg/ml
P₂ = Diberi senyawa flavonoid konsentrasi 10 µg/ml
P₃ = Diberi senyawa flavonoid konsentrasi 100 µg/ml

Tabel 4.2 Jumlah *Staphylococcus aureus* yang terfagositosis oleh netrofil setelah diberi senyawa flavonoid (*Kaempferia galanga* Linn) dengan peningkatan konsentrasi

No	Σ mikroba yang terbunuh pada kelompok (10 ³)			
	Kontrol	P ₁	P ₂	P ₃
1	,28	,35	,79	,19
2	,24	,73	,42	,23
3	,80	,39	,81	,43
4	,51	,91	,34	,49
5	,67	1,37	,86	,86
6	,93	,99	1,14	1,18
7	1,67	1,28	1,38	1,46
8	1,22	1,18	1,17	1,56
9	1,64	1,42	1,15	1,07
10	0,93	1,19	1,55	1,44
Σ	889	981	961	891

IV. PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa kemampuan netrofil setiap subyek berbeda dalam membunuh dan memfagosit/menelan kuman (Tabel 4.1 dan 4.2). Perbedaan ini menunjukkan bahwa setiap orang mempunyai kemampuan imunitas yang berbeda.

Efek imunomodulasi yang diberikan oleh senyawa flavonoid kencur pada penelitian bersifat positif (stimulator= meningkatkan kemampuan efek mikrobisidal dan proses fagositosis/penelanan) pada kelompok perlakuan 1 sampai 3 (konsentrasi 1 10 dan 100 µg/ml). Sifat stimulator senyawa flavonoid ini menurun cukup banyak sesuai dengan peningkatan konsentrasi.

Hasil penelitian ini pada konsentrasi yang tinggi mendukung penelitian efek imunomodulasi lain yang telah dilakukan terhadap kemampuan proses fagositosis

diantaranya penelanan baik secara *in vitro* (sel netrofil) dan *in vivo* (tikus percobaan) diketahui bahwa senyawa flavonoid kencur bersifat sebagai supresan. Keadaan ini mungkin disebabkan karena konsentrasi flavonoid yang diberikan jauh lebih tinggi yaitu 100 , 150 dan 200 µg/ml. Pada penelitian ini diberikan konsentrasi yang lebih rendah (1 sampai 10 µg/ml) senyawa flavonoid mempunyai efek imunomodulasi, namun peningkatan konsentrasi kemampuan stimulatornya menurun. Hal ini menunjukkan bahwa flavonoid mungkin pada konsentrasi yang tinggi perannya terhadap sistem imunitas sudah berkurang dan mungkin sudah bersifat sebagai perusak sel, karena telah diketahui bahwa flavonoid dalam dosis yang besar bersifat sebagai oksidan, keadaan ini tentu akan mempengaruhi baik terhadap sel netrofil maupun pada kuman sendiri.

Efek mikrobisidal merupakan suatu penelitian yang multikompleks karena banyak faktor yang mempengaruhinya diantaranya adalah sifat opsonin yaitu antibodi dan komplemen. Faktor opsonin juga berpengaruh terhadap proses mikrobisidal ini dan flavonoid mungkin akan mempengaruhinya. Untuk itu perlu penelitian lebih lanjut tentang efek flavonoid terhadap komplemen dan difrensiasi dari limfosit (sel T dan sel B).

Pengaruh flavonoid sebagai oksidan terhadap sel netrofil tentu menyebabkan sel netrofil akan rusak, sehingga netrofil tidak mampu menjalani fungsinya sebagai fagositosis (menelan dan menghancurkan kuman). Netrofil yang tidak mampu menjalani fungsinya tentu akan mempengaruhi terhadap penurunan jumlah kuman yang terbunuh dan jumlah kuman yang tertelan. Kondisi lain juga dapat mempengaruhi terhadap kuman, mungkin flavonoid juga mampu langsung membunuh mikroba khususnya *Staphylococcus aureus*. Penelitian terhadap ekstrak air kencur terhadap pertumbuhan koloni diketahui bahwa kencur dapat menghambat pertumbuhan koloni beberapa mikroba (Sugondo, dkk. 1986). Untuk itu perlu penelitian lebih lanjut tentang efek oksidan dari flavonoid terhadap kuman/mikroba.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Senyawa flavonoid kencur bersifat sebagai imunomodulasi terhadap kemampuan mikrobisidal.
2. Konsentrasi 1 sampai 100 $\mu\text{g/ml}$ senyawa flavonoid memberikan efek stimulator terhadap kemampuan mikrobisidal dan penelanan dari sel netrofil, namun peningkatan konsentrasi mengurangi kemampuan stimulatornya.
3. Konsentrasi 1 sampai 100 $\mu\text{g/ml}$ belum menghasilkan sifat stimulator yang maksimal terhadap kemampuan mikrobisidal dan fagositosis secara *in vitro*, untuk itu dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan konsentrasi dibawah 10 $\mu\text{g/ml}$.
4. Peningkatan konsentrasi yang tinggi (khususnya 100 $\mu\text{g/ml}$) dari senyawa flavonoid kencur mungkin sudah bersifat oksidan.
5. Peran oksidan flavonoid kencur mungkin dapat mempengaruhi sel netrofil dan kuman sendiri.

B. SARAN

1. Untuk mendapatkan konsentrasi yang maksimal terhadap stimulator flavonoid perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap kemampuan mikrobisidal dan fagositosis secara *in vitro*
2. Hasil penelitian ini dapat dipakai sebagai dasar untuk pengujian efek imunomodulasi lainnya (diantaranya proliferasi limfosit, aktivitas komplemen dan migrasi sel netrofil) serta efek flavonoid kencur terhadap mikroba.

UCAPAN TERIMA KASIH

1. Terima kasih kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat, Direktorat Jendral Tinggi dan Kebudayaan yang telah memberi biaya untuk pelaksanaan penelitian ini tahun 2003
2. Staf dan karyawan Laboratorium Biokimia, Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UNAND dan Laboratorium Kimia Bahan Alam Jurusan Farmasi FMIPA UNAND yang telah memberikan fasilitas dan kemudahan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhattachary, R.K. 1989. Flavonoid modulation of carcinogenesis. Symposium of flavonoid in biology and medicine. Singapore
- Bellanti, J.A. 1993. Immunologi III. Edisi ke 3. Penerjemah Samik Wahab. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Fundenberg, H.H. dkk. 1992. Basic and clinical immunology. 3rd edition. Lange Medical Publication. Los Altos, California.
- Gusti, R.; Subowo; Siddik dan W. Yatin. 1996. Pengujian efek ekstrak kencur (*Kaempferia galanga* Linn) terhadap imunomodulasi melalui uji fagositosis netrofil secara in vitro. Majalah Kedokteran Andalas Vol. 20 No. 1 dan 2.
- _____; A. Amir, dan Yanwirasti. 2000. Efek imunomodulasi senyawa p-metoksi sinamat etil ester dan flavonoid kencur (*Kaempferia galanga* Linn) terhadap fagositosis secara in vivo pada tikus galur wistar. Dibiayai oleh Dikti melalui Lembaga Eiykman Jakarta (Dibacakan pada Kongres Pertemuan Ahli Anatomi Indonesia, Den Pasar 2000).
- _____; E. Yerizel. 2000. Efek imunologis senyawa p-metoksi sinamat etil ester dan flavonoid kencur (*Kaempferia galanga* Linn) terhadap kemampuan fagositosis secara in vitro (Dibiayai oleh dana Dikti dalam Berbagai Bidang Ilmu Tahun 1997). Jurnal Yarsi Vol. 8 No. 1 Januari-April 2000.
- Hargono, D. 1996. Sekelumit mengenai obat nabati dan sistem imunitas. Cermin Kedokteran No. 108. Jakarta

- Loggia, R.D; A. Tuboro, dkk. 1985. The role of flavonoids in the antiinflammatory activity of *Chamomilla recutita*. Plant flavonoids in biology and medicine symposium Buffalo, New York.
- Markham, K.R. 1986. Techniques of flavonoid identification (Cara mengidentifikasi flavonoid). Terjemah Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB Bandung.
- Meuleman, J.; Pane, K. 1985. The immunologic effect, kinetics, and use of glucocorticoid steroid. The Medical Clinical of North America. Volume 69 No. 4. W.B Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Janeiro, Sydney, Tokyo.
- Pietta, P. 1998. Flavonoids in medicine plants. Flavonoid in health and disease. Catherine et al. Marcel Dekker Inc. New York
- Stites, D.P; A.T. Terr; T.G. Parslow. 1994. Basic & clinical immunology. Eighth edition. Prentice Hall International Inc.
- Subowo. 1994. Efek imunomodulator dari tumbuhan obat. Dibacakan pada seminar tanaman obat Indonesia (TOI). Bandung
- Sugiarso, N.C; A.B. Sutjiatmo. 1994 Uji efek antiradang rimpang kencur pada tikus galur wistar. Dibacakan pada seminar tanaman obat Indonesia (TOI). Bandung
- Sugondo, U. dkk. 1986. Efek antimikroba dari infus *Kaempferia galanga* Linn. Dibacakan pada Kongres IKAFI Manado.
- Yanwirasti, Gusti. R dan Salmiah, A. 1996. Daya hambat senyawa flavonoid kencur (*Kaempferia galanga* Linn) terhadap sel hepar tikus setelah terpapar karbon tetraklorida. Majalah Kedokteran Andalas. Vol. 20. No. 3 dan 4 Periode September- Desember.
- Wagner, H. 1990. Search for plant derived natural products with immunomodulatory activity (recent advances). Pure & Appl Chemical. Vol. 6 ISBN
- Wagner, H.; K. Jurcic. 1991. Assay for immunomodulation and effects on mediator of inflammation. Methods inplant biochemistry. Vol. 6 ISBN.
- Weir, D.M; J. Stewart. 1993. Immunology. Seventh edition. Churchill Livingstone. Edinburg, London, Melbourne, New York.