

Pengaruh Pemberian Ekstrak *Spirulina platensis* terhadap Respon Imun Humoral Mencit setelah Uji Tantang Dengan Takizoit

The Effect of *Spirulina platensis* Extract on Humoral Immunity of Mice after Tachyzoite Test

Sorta Basar Ida Simanjuntak^{1*}, Sukarti Moeljopawiro², Wayan Tunas Artama³, dan Subagus Wahyuono⁴

¹Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

²Laboratorium Biokimia, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

³Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

⁴Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

E-mail: busorta@yahoo.com *Penulis untuk korespondensi

Abstract

Toxoplasmosis is an infectious disease caused by *Toxoplasma gondii*. This disease could severely attack human and animal. Up to now there is no simple treatment to fight against toxoplasmosis. A prospective alternative treatment is to increase body immune with application of immune stimulant such as *Spirulina platensis*. Therefore, the objective of this research were: to determine the most potential extract for increasing humoral immunity response and to determine the most effective dose of *Spirulina platensis* to increase humoral immunity response. This research was conducted experimentally by applying Factorial Completely Randomized Design. The first factor was the type of extract, i.e. ethyl acetate extract; water extract; and crude *Spirulina platensis*. The second factor was the dose of extract, i.e. 0; 5; 10, 15 mg/mouse. The result of humoral immunity test showed that the mice treated with ethyl acetate extract at dose of 5 mg/mouse was the best to increase the humoral immunity response. Latin Square Design (LSD) test showed that there was an interaction between the dose and the type of extract ($P < 0,05$).

Key words: Humoral immunity, immunostimulant, *Spirulina platensis*, toxoplasmosis

Abstrak

Toksoplasmosis adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Toxoplasma gondii*. Penyakit ini sangat berbahaya pada hewan maupun manusia. Toksoplasmosis sampai sekarang masih sulit ditanggulangi. Untuk itu, dicari alternatif dengan cara pemberian imunostimulator, seperti *Spirulina platensis*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ekstrak *Spirulina platensis* yang paling potensial meningkatkan respon imun humoral dan mengetahui dosis *Spirulina platensis* yang efektif dalam meningkatkan respons imun humoral. Rancangan penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap pola Faktorial. Faktor pertama adalah jenis ekstrak (ekstrak etil asetat, ekstrak air dan *Spirulina platensis* murni). Faktor kedua adalah dosis ekstrak (0, 5, 10, 15 mg/ekor mencit). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dengan dosis 5 mg/ekor mencit adalah yang terbaik meningkatkan respon imun humoral. Uji lanjut dengan Latin Square Design (LSD) menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara jenis ekstrak dan dosis ekstrak.

Kata kunci: Imunostimulator, respons imun humoral, *Spirulina platensis*, toksoplasmosis

Diterima: 15 Desember 2010, disetujui: 18 Februari 2011

Pendahuluan

Toxoplasma gondii adalah parasit sel tunggal, kosmopolit, intraseluler obligat dari phylum Apicomplexa, penyebab

toksoplasmosis (Saeij *et al.*, 2007). Infeksi utama *T. gondii* selama kehamilan dapat menyebabkan keguguran, retardasi mental, epilepsi, cacat sebelum kelahiran atau menurunkan penglihatan bahkan dapat

mengakibatkan kematian (Jones *et al.*, 2001; Buffalano *et al.*, 2005). Infeksi *T. gondii* terbagi dalam dua fase yaitu fase akut dan fase laten (Kodym *et al.*, 2007). *T. gondii* menginfeksi sepertiga populasi manusia dan hewan berdarah panas termasuk hewan vertebrata dan invertebrata (Garcia, *et al.*, 2006; Sotiriadou and Karanis, 2008; Gubbels *et al.*, 2008; Crawford *et al.*, 2009).

Toksoplasmosis dapat menyerang berbagai jenis hewan, misalnya: anjing, kucing dan hewan ternak seperti sapi, kambing, domba, babi. Hewan yang terinfeksi dapat mengalami gangguan pertumbuhan dan gangguan fertilitas. Toksoplasmosis sampai sekarang masih menjadi perhatian, penyakit ini dapat ditularkan dari hewan ke manusia melalui kista yang terdapat di dalam daging yang dikonsumsi yang mengandung jaringan kista. Toksoplasmosis dapat juga ditularkan melalui sayuran dan buah-buahan serta air yang tercemar ookista. Wanita hamil yang terinfeksi dapat mengalami keguguran dan pada janin terjadi kelainan seperti hidrosefalus dan mikrosefalus yang dapat menyebabkan retardasi mental dan retinokoiditis yang berakibat kebutaan (Ajioka *et al.*, 2001).

Hospes definitif *T. gondii* adalah kucing, tetapi parasit dapat dibawa di dalam darah berbagai hewan maupun manusia (Buffalano *et al.*, 2005). Pada hospes intermedier *T. gondii* tidak memproduksi ookista tetapi bentuk kista terdapat dalam otot atau jaringan saraf, menyebabkan kasus toksoplasmosis laten (Anwar *et al.*, 2006). Manusia dapat terinfeksi lewat makanan dan daging yang terkontaminasi oleh kista, air yang tercemar ookista, transfusi darah dari donor yang terinfeksi *T. gondii*, transplantasi organ atau dari ibu ke fetus lewat plasenta (Singh, 2003). Infeksi *T. gondii* adalah asimtomatik, dapat menyebabkan penyakit sistemik dan kelainan pada mata. Penyembuhan harus dilakukan segera setelah lahir (Buffalano *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2006; Jones *et al.*, 2008).

Diagnosis toksoplasmosis dapat dilakukan dengan pemeriksaan serologi menggunakan berbagai imunoglobulin anti-toxoplasma (IgG dan IgM). Jumlah total parasit dapat dilihat dengan cara menghitung jumlah

parasit pada darah peripheral (Beghetto *et al.*, 2006).

Penyembuhan toksoplasmosis secara total tidak dapat dilakukan, karena yang masuk dalam tubuh adalah fase bradyzoit. Pada manusia yang imunitasnya tinggi, fase bradyzoit ini akan ada di otot dalam keadaan dorman. Namun, pada saat imunitas turun, maka fase bradyzoit ini akan aktif. Untuk itu, penanggulangan toksoplasmosis dilakukan dengan meningkatkan imunitas. Salah satunya adalah dengan menggunakan imunostimulator, misalnya *Spirulina platensis*.

Di alam, *Spirulina platensis* ditemukan di danau air panas atau di kolam dangkal di daerah tropis sehingga sangat mudah untuk dipanen (Tietze, 2004). Kebanyakan sel tumbuhan dilapisi oleh selulosa sehingga sulit dicerna. Namun, *Spirulina platensis* berbeda, dinding selnya lembut, dilapisi oleh sel tunggal yang bukan selulosa, membran dilapisi oleh gula kompleks (yang larut dalam getah pencernaan) dan protein, sehingga mudah dicerna (Estrada *et al.*, 2001 dalam Oliveira *et al.*, 2009). Karbohidrat yang terkandung dalam *Spirulina platensis* dengan cepat merangsang sel imun untuk membunuh sel kanker (Dowd, 2003; Ray *et al.*, 2007, Oliveira *et al.*, 2008).

Grzanna *et al.*, (2006) menyatakan bahwa *Spirulina platensis* mempunyai efek imunostimulator. Simanjuntak *et al.*, (2004) menunjukkan bahwa pemberian suplemen *Spirulina platensis* dalam pakan ikan dapat meningkatkan jumlah eritrosit, total leukosit, nilai hematokrit dan kadar hemoglobin ikan nilam (*Osteochilus hasselti* C.V.). Pemberian pakan selama 14 hari dengan suplementasi *S. platensis* dapat meningkatkan kekebalan tubuh ikan patin jambal dilihat dari gambaran histologis organ hati, limpa dan ginjal. Bahkan ikan yang diuji tantang dengan bakteri patogen *Aeromonas hydrophila*, terjadi *recovery*, yaitu luka akibat infeksi bakteri lama kelamaan tertutup oleh jaringan baru (Simanjuntak *et al.*, 2002; 2003).

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui ekstrak *Spirulina platensis* yang paling potensial meningkatkan respons imun humoral dan untuk mengetahui dosis *Spirulina platensis* yang efektif dalam meningkatkan respon imun humoral.

Metode Penelitian

Ekstraksi *Spirulina platensis*

Spirulina platensis sebanyak 20 g dimasukkan ke dalam corong pisah 500 ml, kemudian ditambah 300 ml akubidestilata dan diaduk sampai homogen. Selanjutnya, 150 ml larutan etil asetat ditambahkan dan dibolak-balik sampai homogen serta didiamkan selama satu malam. Setelah semalam, larutan dalam corong pisah akan terpisah menjadi dua lapisan. Lapisan atas berwarna hijau adalah ekstrak etil asetat sedangkan lapisan bawah berwarna biru adalah ekstrak air. Kedua ekstrak ditempatkan pada cawan kaca yang berbeda, kemudian dikeringkan menggunakan kipas angin. Setelah kering ekstrak ditempatkan dalam falkon kaca dan disimpan dalam freezer. Ekstrak etil asetat dan ekstrak air siap diujikan secara *in vivo* pada mencit.

Kultivasi Parasit *in vivo*

Tiga ekor mencit Balb C sehat umur 8 minggu disuntik dengan stabilat takizoit *Toxoplasma gondii* isolat Bogor secara intraperitoneal dengan kepadatan 1×10^7 sel/ml. Setelah 72 jam, mencit menunjukkan gejala sakit yang ditandai dengan bulu berdiri, lemah, tidak nafsu makan dan minum, frekuensi pernafasan menurun, tidak banyak gerak dan denyut jantung cepat. Selanjutnya, mencit dieuthanasia dengan cara mencit dimasukkan ke dalam tempat yang dialasi kapas yang telah dibasahi dengan kloroform selama 30 detik, kemudian dilakukan pembedahan dan pencucian rongga peritoneal. Selanjutnya 10 ml larutan Normal Saline diinjeksikan ke dalam cavum peritoneum mencit, diurut-urut dengan 2 jari selama 3 menit. Cairan peritoneal yang berisi takizoit diambil menggunakan spuit. Takizoit kemudian diinfeksi pada 15 ekor mencit dewasa dengan kepadatan 1×10^7 sel/ml untuk mendapatkan takizoit yang lebih banyak dengan cara yang sama dengan sebelumnya. Cairan peritoneal siap dibuat protein *Excretory and Secretory Antigen*. Agar tersedia takizoit untuk ujiantang, maka dilakukan *pasase* pada mencit sehat.

Pembuatan larutan uji

Perlakuan yang dicobakan adalah ekstrak etil asetat, ekstrak air dan *Spirulina platensis* murni masing-masing dengan dosis 0, 5, 10 dan 15 mg/ml/ekor mencit. Cara pembuatan larutan uji: ekstrak etil asetat kering dengan berat sesuai dengan perlakuan ditempatkan pada mortal kecil. Ekstrak digerus, setelah halus ditambahkan co-solvent 0,75% tween 40. Selanjutnya dibuat seri dosis dari larutan stok secara aseptis. Pembuatan larutan uji dari ekstrak air dan *Spirulina platensis* murni dilakukan sama seperti ekstrak etil asetat, untuk dosis 0 adalah larutan co solvent 0,75% tween 40. Larutan uji selalu dibuat baru.

Uji *in vivo* pada Mencit

Sebanyak 60 ekor mencit ditimbang dan dikelompokkan menjadi 10 kelompok. Kelompok I (kelompok kontrol, diberi perlakuan dosis 0), kelompok II (diberi perlakuan ekstrak etil asetat dosis 5 mg/ml), kelompok III (diberi perlakuan ekstrak etil asetat dosis 10 mg/ml), kelompok IV (diberi perlakuan ekstrak etil asetat dosis 15 mg/ml), kelompok V (diberi perlakuan ekstrak air dosis 5 mg/ml), kelompok VI (diberi perlakuan ekstrak air dosis 10 mg/ml), kelompok VII (diberi perlakuan ekstrak air dosis 15 mg/ml), kelompok VIII (diberi perlakuan *Spirulina platensis* murni dosis 5 mg/ml), kelompok IX (diberi perlakuan *Spirulina platensis* murni dosis 10 mg/ml), kelompok X (diberi perlakuan *Spirulina platensis* murni dosis 15 mg/ml), tiap-tiap kelompok dimasukkan ke dalam 10 kandang yang telah disucihamakan dengan kepadatan 6 ekor/kandang. Kandang mencit diberi label sesuai dengan perlakuan dan diisi sekam secukupnya. Botol minum yang telah diberi pipet pada tutupnya diisi dengan air bersih. Mencit diadaptasi selama 7 hari. Air minum dan pakan diberikan secara *ad libitum*. Perlakuan diberikan dengan sondeg lambung per oral sebanyak 1 ml/ekor mencit selama 14 hari setiap pagi dan sore hari. Semua mencit pada hari ke-15 diuji tantang dengan takizoit dan selanjutnya tidak diberi perlakuan.

Pengambilan Darah untuk Serum dan blood count

Pengambilan darah dilakukan melalui vena orbital menggunakan pipet kapiler. Darah diambil sebelum diinfeksi dengan takizoit, dan setelah seminggu diinfeksi dengan takizoit.

Darah untuk serum, ditampung pada *microtube steril*. Darah disimpan di kulkas 4°C selama 10 menit, kemudian disentrifus dengan kecepatan 12000 rpm selama 2 menit. Supernatan (serum) diambil dan ditempatkan pada eppendorf volume 1,5 ml baru. Serum disimpan di *freezer* -20°C sampai digunakan untuk pengukuran absorbansi Immunoglobulin-G (IgG). Darah ditambah antikoagulan *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA) 10% untuk *blood count*.

Pengukuran Optical Density Immunoglobulin G (OD IgG)

Pengukuran OD IgG menggunakan metode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) dengan pengenceran serum perlakuan 50 kali (hasil terbaik dari *checker board*).

Antigen ESA 10 µg/ml di-*coating* sebanyak 100 µl/well kemudian diinkubasi pada *waterbath* dengan suhu 37°C selama semalam (12–14 jam). Setelah semalam, dicuci dengan *washing solution* (3 x) sebanyak 200 µl/well dan di-*blocking* dengan 1% BSA dalam *buffer Phosphat Buffer Saline I* masing-masing 200 µl/well. Kemudian diinkubasi dalam *waterbath* suhu 37°C selama 1–2 jam, dan selanjutnya dicuci dengan *washing solution* (3 x) sebanyak 200 µl/well. Serum perlakuan disiapkan dengan pengenceran 50 kali ditambah *buffer* inkubasi dalam *microtube*. Mikroplate diisi dengan serum perlakuan 100 µl/well kemudian diinkubasi dalam *waterbath* yang sama selama 1 jam. Selanjutnya, dicuci dengan *washing solution* (3 x) sebanyak 200 µl/well, dan diisi dengan larutan konjugat anti mouse IgG alkaline phosphatase 1 : 3000 dan ditambah 1% BSA dalam 15 ml buffer inkubasi (yang telah disiapkan sebelumnya) sebanyak 150 µl/well kemudian diinkubasi dalam *waterbath* lagi selama 1 jam. Mikroplate dicuci dengan *washing solution* (3 x) sebanyak 200 µl/well. Selanjutnya diisi dengan substrat 4

Nitro Phenil Phosphate (NPP) 1 mg/ml dalam 15 ml buffer substrat masing-masing 150 µl/well, dan diinkubasi dalam *waterbath* suhu 37°C selama 15 menit kemudian diukur dengan *elisa reader* pada panjang gelombang 405 nm.

Perhitungan blood count

Perhitungan jumlah eritrosit dan leukosit menggunakan hemositometer Neubauer. Untuk perhitungan jumlah eritrosit darah disap sampai skala 0,5 kemudian ditambah NaCl sampai skala 101, sedangkan untuk perhitungan jumlah leukosit darah ditambah larutan Turk sampai skala 11. Selanjutnya, pipet dibolak balik dan 3 tetes pertama dibuang. Kemudian darah diteteskan pada hemositometer Neubauer dan jumlah sel darah dihitung di bawah mikroskop.

Kadar hemoglobin diukur dengan spektrofotometer. Sebanyak 0,02 ml darah ditambah 5 ml larutan Drabkins, didiamkan selama 10 menit. Kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 540 nm dengan blanko larutan Drabkins. Selanjutnya, angka yang diperoleh dicocokkan dengan data standar pada tabel yang tersedia.

Tabung mikropipet diisi dengan darah sampai $\frac{3}{4}$ bagian, kemudian salah satu ujungnya ditutup dengan *seal*. Selanjutnya, disentrifus dengan kecepatan 16.000 rpm selama 5 menit. Nilai hematokrit dibaca dengan hematokrit *reader*.

Analisis Data

Data rerata dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial. Apabila antarperlakuan terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji *Latin Square Design* (LSD).

Jumlah Eritrosit

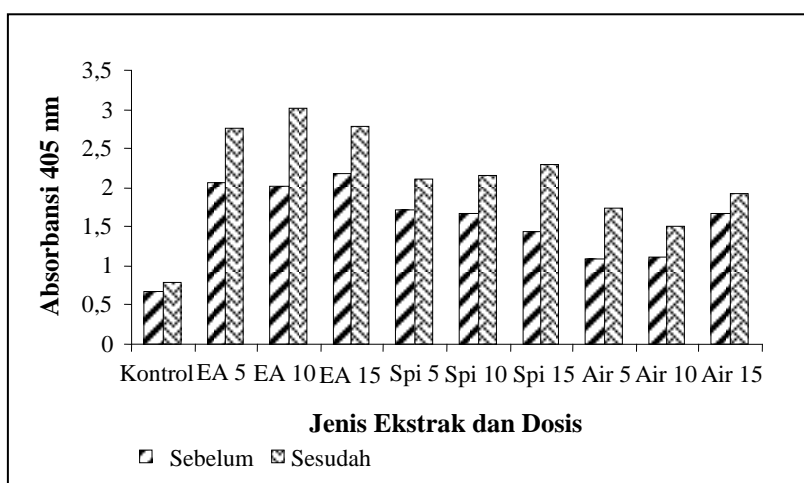
Jumlah eritrosit mencit sebelum diinfeksi dengan takizoit tertinggi pada mencit yang diberi ekstrak etil asetat dosis 10 mg/ml/ekor mencit 10,27 juta/µL diikuti dengan dosis 5 mg/ml/ekor mencit 9,83 juta/µL dan dosis 15 mg/ml/ekor mencit 9,12 juta/µL. *Spirulina platensis* murni yang diberikan dengan dosis 15 mg/ml/ekor mencit 8,99 juta/µL, dosis 10 mg/ml/ekor mencit 8,41 juta/µL dan dosis 5 mg/ml/ekor mencit 7,75 juta/µL. Sedangkan ekstrak air dosis 15 mg/ml/ekor mencit 8,96

Pengaruh Pemberian Ekstrak *Spirulina platensis*

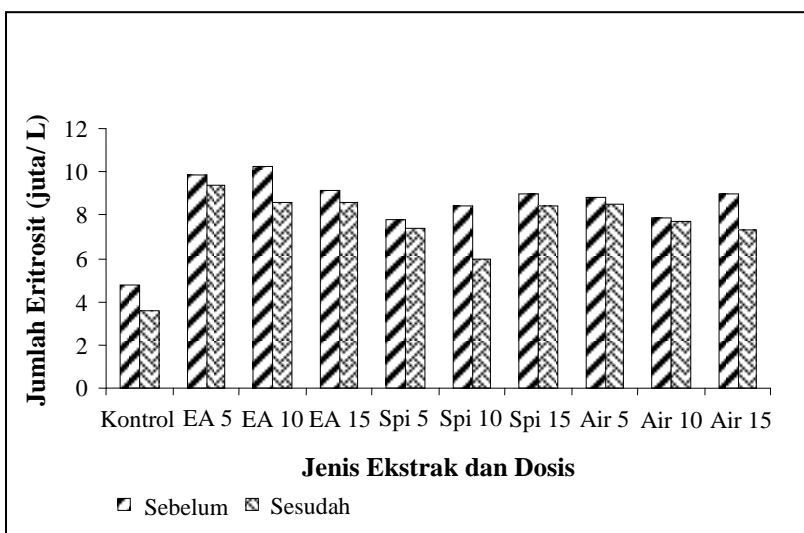
juta/ μ L, dosis 5 mg/ml/ekor mencit 8,8 juta/ μ L dan dosis 10 mg/ml/ekor mencit 7,84 juta/ μ L, serta terendah pada kontrol 4,75 juta/ μ L (Gambar 2).

Jumlah eritrosit setelah diinfeksi dengan takizoit tertinggi pada perlakuan ekstrak etil asetat dosis 5 mg/ml/ekor mencit 9,34 juta/ μ L diikuti dosis 10 mg/ml/ekor mencit 8,61 juta/ μ L serta dosis 15 mg/ml/ekor mencit 8,57 juta/ μ L. Ekstrak air yang diberikan dosis 5 mg/ml/ekor mencit 8,53 juta/ μ L, dosis 10

mg/ml/ekor mencit 7,72 juta/ μ L dan dosis 15 mg/ml/ekor mencit 7,34 juta/ μ L. Sedangkan *Spirulina platensis* murni dosis 15 mg/ml/ekor mencit 8,42 juta/ μ L, dosis 5 mg/ml/ekor mencit 7,36 juta/ μ L dan dosis 10 mg/ml/ekor mencit 5,99 juta/ μ L serta terendah pada kontrol 3,55 juta/ μ L. Jumlah eritrosit sebelum diinfeksi dengan takizoit lebih tinggi dibandingkan setelah diinfeksi dengan takizoit untuk semua perlakuan (Gambar 2).



Gambar 1. Respons IgG serum mencit yang diberi ekstrak etil asetat (EA), *Spirulina platensis* murni dan ekstrak air dengan dosis 0, 5, dan 15 mg/ml/ekor, sebelum dan setelah infeksi dengan takizoit.



Gambar 2. Jumlah eritrosit mencit yang diberi ekstrak etil asetat (EA), *Spirulina platensis* murni dan ekstrak air, dengan dosis 0, 5, 10 dan 15 mg/ml/ekor, sebelum dan setelah infeksi dengan takizoit.

Jumlah Leukosit

Jumlah leukosit mencit sebelum diinfeksi dengan takizoit tertinggi pada mencit yang diberi ekstrak etil asetat 15 mg/ml/ekor mencit 13.950 sel/ μ L, dosis 10 mg/ml/ekor mencit 10.000 sel/ μ L dan dosis 5 mg/ml/ekor mencit 5.500 sel/ μ L. *Spirulina platensis* murni yang diberikan dengan dosis 5 mg/ml/ekor mencit 7.650 sel/ μ L, dosis 15 mg/ml/ekor mencit 5.350 sel/ μ L dan dosis 5 mg/ml/ekor mencit terendah 4.550 sel/ μ L. Sedangkan ekstrak air dosis 10 mg/ml/ekor mencit 6.600 sel/ μ L, dosis 5 mg/ml/ekor mencit 6.100 sel/ μ L dan dosis 15 mg/ml/ekor mencit 4.350 sel/ μ L serta pada kontrol 4.600 sel/ μ L (Gambar 3).

Jumlah leukosit mencit setelah diinfeksi dengan takizoit terdapat peningkatan pada mencit yang diberi ekstrak etil asetat 10 mg/ml/ekor mencit 11.300 sel/ μ L, dosis 5 mg/ml/ekor mencit 8.200 sel/ μ L, *S. platensis* murni dosis 10 mg/ml/ekor mencit 5.900 sel/ μ L, dosis 15 mg/ml/ekor mencit 7.400 sel/ μ L dan ekstrak air dosis 15 mg/ml/ekor mencit 5.900 sel/ μ L. Adapun pemberian ekstrak etil asetat dosis 15 mg/ml/ekor mencit 9.400 sel/ μ L, *Spirulina platensis* murni dosis 5 mg/ml/ekor mencit 5.700 sel/ μ L, ekstrak air dosis 5 mg/ml/ekor mencit 5.300 sel/ μ L, dosis 10 mg/ml/ekor mencit 6.500 sel/ μ L dan pada kontrol 3.600 sel/ μ L mengalami penurunan (Gambar 3).

Nilai Hematokrit

Nilai hematokrit mencit sebelum diinfeksi dengan takizoit tertinggi pada pemberian ekstrak etil asetat dosis 10 mg/ml/ekor mencit 45%; diikuti dengan dosis 15 mg/ml/ekor mencit 44% dan dosis 5 mg/ml/ekor mencit 43%. Ekstrak air yang diberikan dengan dosis 15 mg/ml/ekor 44%, dosis 5 mg/ml/ekor mencit 43% dan dosis 10 mg/ml/ekor mencit (43%). Adapun *S. platensis* murni dosis 10 mg/ml/ekor mencit 38%, dosis 15 mg/ml/ekor mencit 36% dan dosis 5 mg/ml/ekor mencit 35% serta terendah pada kontrol 30% (Gambar 4).

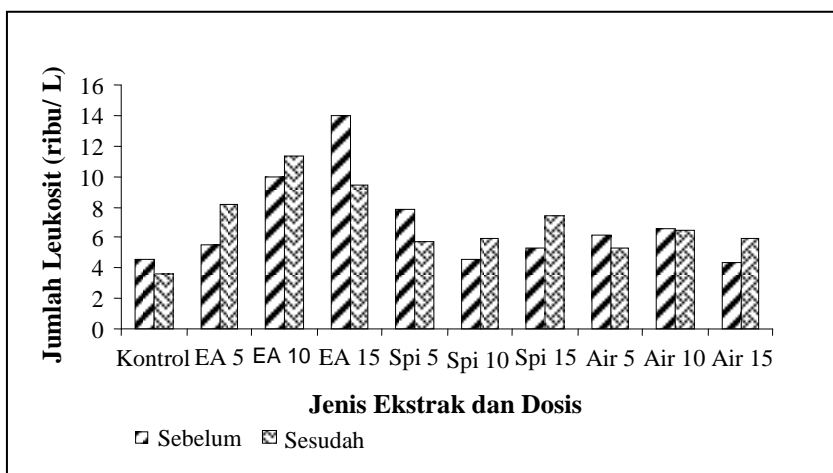
Nilai hematokrit mencit setelah diinfeksi dengan takizoit meningkat pada pemberian ekstrak etil asetat dosis 5 mg/ml/ekor mencit 48,2% dan *Spirulina platensis* murni dosis 15 mg/ml/ekor mencit 40,5%. Adapun pemberian ekstrak etil asetat dosis 10 mg/ml/ekor mencit 41,5%, dosis 15 mg/ml/ekor mencit 35,6%, *Spirulina platensis* murni dosis 5 mg/ml/ekor mencit 28,5%, dosis 10 mg/ml/ekor mencit 35,3%, ekstrak air dosis 5 mg/ml/ekor mencit 38,7%, dosis 10 mg/ml/ekor mencit 41%, dosis 15 mg/ml/ekor mencit 42,5% dan pada kontrol 28% mengalami penurunan (Gambar 4).

Kadar Hemoglobin

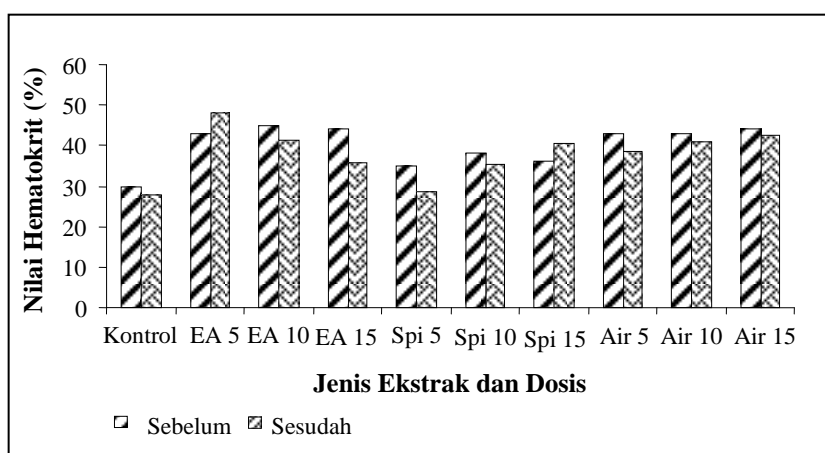
Kadar Hemoglobin mencit sebelum diinfeksi dengan takizoit tertinggi pada pemberian *Spirulina platensis* murni dosis 15 mg/ml/ekor mencit 12,6 g/dL, diikuti dengan ekstrak etil asetat dosis 5 mg/ml/ekor mencit 11,6 g/dL, *Spirulina platensis* murni dosis 10 mg/ml/ekor mencit 11,2 g/dL, ekstrak air dosis 5 mg/ml/ekor mencit 11,2 g/dL, ekstrak air dosis 15 mg/ml/ekor mencit 11,2 g/dL dan kontrol 11,2 g/dL, ekstrak etil asetat dosis 10 mg/ml/ekor mencit 10,9 g/dL, ekstrak air dosis 10 mg/ml/ekor mencit 10,5 g/dL, *Spirulina platensis* murni dosis 5 mg/ml/ekor mencit 9,9 g/dL. dan ekstrak etil asetat dosis 15 mg/ml/ekor mencit 9,6g/dL., dan (Gambar 5).

Kadar Hemoglobin mencit setelah diinfeksi dengan takizoit meningkat pada pemberian ekstrak etil asetat dosis 5 mg/ml/ekor mencit 14,8 g/dL, ekstrak air dosis 10 mg/ml/ekor mencit 12,9 g/dL, dosis 15 mg/ml/ekor mencit 12,8 g/dL, *Spirulina platensis* murni dosis 5 mg/ml/ekor mencit 12,7 g/dL, dosis 15 mg/ml/ekor mencit 12,7 g/dL, ekstrak etil asetat dosis 10 mg/ml/ekor mencit 11,2 g/dL. Adapun kadar Hemoglobin mencit yang diberi *Spirulina platensis* murni dosis 10 mg/ml/ekor mencit 10,4 g/dL, ekstrak etil asetat dosis 15 mg/ml/ekor mencit 8,7 g/dL dan kontrol 10,2 g/dL mengalami penurunan. Kadar Hemoglobin mencit yang diberi ekstrak air dosis 5 mg/ml/ekor sebelum dan setelah infeksi dengan takizoit tidak berubah yaitu 11,2 g/dL (Gambar 5).

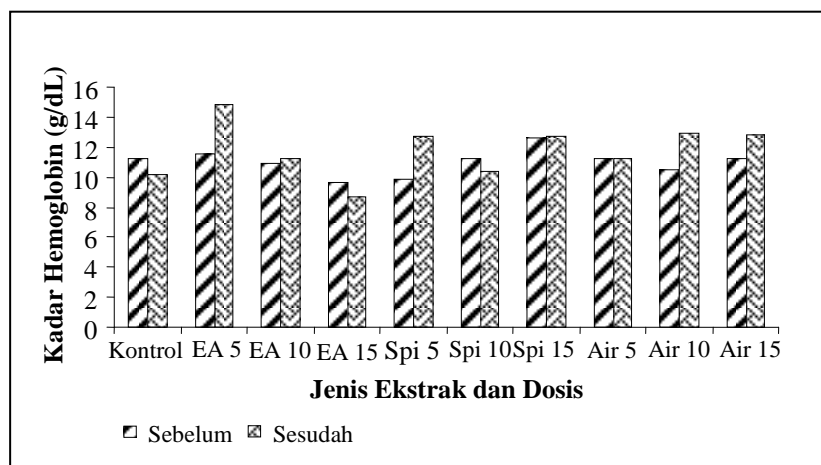
Pengaruh Pemberian Ekstrak *Spirulina platensis*



Gambar 3. Jumlah leukosit mencit yang diberiekstraketil asetat (EA), *Spirulina platensis* murni dan ekstrak air, dengan dosis 0, 5, 10 dan 15mg/ml/ekor, sebelum dan setelah infeksi dengan takizoid.



Gambar 4. Nilai hematokrit mencit yang diberi ekstrak etil asetat (EA), *Spirulina platensis* murni dan ekstrak air dengan dosis 0, 5, 10 dan 15mg/ml/ekor, sebelum dan setelah infeksi dengan takizoid.



Gambar 5. Kadar hemoglobin mencit yang diberi ekstrak etil asetat (EA), *Spirulina platensis* murni dan ekstrak air dengan dosis 0, 5, 10 dan 15mg/ml/ekor, sebelum dan setelah infeksi dengan takizoid.

Parameter hematologi dapat memperlihatkan efek nutrisi dan biologi suplementasi *S. platensis* pada makanan tradisional, yaitu terdapat peningkatan jumlah limfosit CD4 setelah 8 minggu suplementasi *S. platensis* (Simpore et al., 2007). Parameter hematologi tikus yang diberi suplementasi *S. platensis* pada hari ke-0 tidak berbeda dengan kontrol. Namun, pada hari ke-15 dan ke-30 konsentrasi hemoglobin, jumlah eritrosit, jumlah leukosit meningkat secara signifikan dibandingkan dengan kontrol (Simsek et al., 2007).

Qureshi et al., (in press) menemukan bahwa pemberian *S. platensis* secara *in vitro* pada ayam, merangsang sistem imun, yaitu meningkatkan regenerasi sel darah baru. Kozlenko dan Henson (1998), mengatakan bahwa *S. platensis* dapat meningkatkan pembentukan sel darah baru. *S. platensis* dapat memperbaiki jumlah sel darah putih dan konsentrasi hemoglobin pada pasien yang diberi perlakuan kemoterapi dan atau radioterapi (Jensen et al., 2001).

Penelitian Besednova (1979) pada hewan mendapatkan bahwa ekstrak *S. platensis* meningkatkan jumlah leukosit dan DNA dalam sumsum tulang belakang tikus yang diberi kemoterapi dan radiasi serta pada anjing terjadi peningkatan jumlah eritrosit. Zhang (1994) dalam Jensen et al., (2007) mengatakan bahwa mencit yang mengkonsumsi *S. platensis* terjadi peningkatan eritropoiesis.

Baojiang (1994) dari penelitiannya terhadap tikus mengatakan bahwa polisakarida yang terkandung pada *Spirulina platensis* dapat memperbaiki fungsi imunitas seluler nonspesifik dan fungsi humoral spesifik.

S. platensis dapat meningkatkan fungsi sistem imun, ketahanan terhadap serangan penyakit, walaupun dengan dosis rendah (Duncan dan Klesius, 1996; Sakai, 1998). Pemberian *Spirulina platensis* 2 g.kg⁻¹ pakan selama 14 hari dapat meningkatkan kekebalan tubuh ikan patin jambal (*Pangasius djambal* Bleeker). Hal ini terlihat dengan terjadinya *recovery* pada luka yang diakibatkan bakteri patogen *Aeromonas hydrophila* (Simanjuntak et al., 2002 dan 2003) serta peningkatan hematologi ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.) (Simanjuntak et al., 2004).

Simpulan dan Saran

Simpulan

Ekstrak paling potensial dalam meningkatkan respons imun humoral mencit adalah ekstrak etil asetat. Dosis paling efektif adalah 5 mg/ml/ekor mencit.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang fraksi apa yang paling potensial dalam meningkatkan respons imun humoral dan respons imun seluler didalam ekstrak etil asetat.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Prof. Dra. Sukarti Moeljopawiro, M.App.Sc. PhD., Prof. Dr. drh. Wayan T. Artama dan Prof. Subagus Wahyuono, MSc.Apt.,PhD. yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan naskah ini.

Daftar Pustaka

- Ajioka, J.W., Fitzpatrick, J.M. dan Reitter, C.P. 2001. Ultrastructure of *Toxoplasma gondii* tachyzoite. Expert Review in Molecular Medicine. <http://www.ermm.cbcu.cam.ac.uk>. Department of Pathology. University of Cambridge. Tennis Court Road. Cambridge. UK.
- Anwar, A., Knaggs, J., Service, K.M., McLaren, G.W., Riordan, P., Newman, C., Delahay, R.J., Cheesman, C. dan Macdonald, D.W. 2006. Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Eurasian Badgers. *J. of Wildlife Dis.*, 42 (1): 179–181.
- Baojiang, G. 1994. Study on effect and mechanism of polysaccharides of *Spirulina* on body immune function improvement. South China Normal Univ. China. *Publ. in Proc. of second Asia Pacific Conf. On Algal Biotech.* Univ. of Malaysia. Pp 33-38. China.
- Beghetto, E., Spadoni, A., Bruno, L., Buffolano, W. dan Gargano, N. 2006. Chimeric antigens of *Toxoplasma gondii*: Toward standardization of *Toxoplasmosis* Serodiagnosis using recombinant product. *J. of Clinical Microbiol.*, 44 (6): 2133–2140.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Spirulina platensis

- Besednova, L. 1979. Immunostimulating activity of lipopolysaccharides from blue-green algae. *Publ. in Zhurnal Mikrobiologii*, 56 (12): 75–79.
- Buffalano, W., Beghetto, E., Pezzo, M.D. dan Spadoni, A. 2005. Use of recombinant antigens for early postnatal diagnosis of Congenital Toxoplasmosis. *J. of Clinical Microbiol.*, 43 (12): 5916–5924.
- Crawford, J., Grujic, O., Bruic, E., Czjzek, M., Grigg, M.E. dan Boulanger, M.J. 2009. Structural Characterization of the Bradyzoite Surface Antigen (BSR4) from *Toxoplasma gondii*, a Unique Addition to the Surface Antigen Glycoprotein 1-related Superfamily. *J. Biol. Chem.*, 284 (14): 9192–9198.
- Dowd, R. 2003. Cut your cancer risk with *Spirulina*: this supplement boosts your immune system and may reverse signs of aging – Supplement Brief. Natural Health.
- Duncan, P.L. dan Klesius, P.H. 1996. Effect of Feeding *Spirulina* on Specific and Nonspecific Immune Responses of *Channel catfish*. *J. of Aquatic Animal Health*, 8: 308–313.
- Garcia, J.L., Gennari, S.M., Machado, R.Z. dan Navarro, I.T. 2006. *Toxoplasma gondii*: Detection by mouse bioassay, histopathology, and polymerase chain reaction in tissues from experimentally infected pigs. *Experimental Parasitology*, 113: 267–271
- Grzanna, R., Polotsky, A., Phan, P.V., Pugh, N., Pasco, D. dan Frondoza, C.G. 2006. Immolins, a High-Molecular-Weight Polysaccharide Fraction of *Spirulina*, Enhances Chemokine Expression in Human Monocytic THP-1 Cells. *The J. of Alt. and Complementary Med.*, 12 (5): 429–435.
- Gubbels, M.J., Lehmann, M., Muthalagi, M., Jerome, M.E., Brooks, C.F., Szatanek, T., Flynn, J., Parrot, B., Radke, J., Striepen, B. dan White, M.W. 2008. Forward Genetic Analysis of the Apicomplexan Cell Division Cycle in *Toxoplasma gondii*. *PLoS Pathogens*, 4 (2): 1–15.
- Jensen, G.S., Ginsberg, D.I., Huerta, P., Citton, M. dan Drapeau, C. 2000. Consumption of *Aphanizomenon flos-aquae* Has Rapid Effects on the Circulation and Function of Immune Cells in Humans. *JANA*, 2 (3): 50–58.
- Jensen, G.S., Ginsberg, D.I. dan Drapeau, C. 2001. *Blue-Green Algae* as an Immuno-Enhancer and Biomodulator. *JANA*, 3 (4): 24–30.
- Jensen, G.S., Hart, A.N., Zaske, L.A.M., Drapeau, C., Gupta, N., Schaeffer, D.J. dan Cruickshank, J.A. 2007. Mobilization of human CD34⁺CD133⁺ and CD34⁺CD133⁻ stem cells in vivo by consumption of an extract from *Aphanizomenon flos-aquae* related to modulation of CXCR4 expression by an L-selectin ligand? *Cardiovascular Revascularization Medicine*, 8: 189–202.
- Jones, J.L., Moran, D.K., Wilson, M., McQuillan, G., Navin, T. dan McAuley, J.B. 2001. *Toxoplasma gondii* Infection in the United States: Seroprevalence and Risk Factors. *Am. J. Epidemiol.*, 154 (4): 357–365.
- Jones, J.L., Moran, D.K., Won, K., Wilson, M. dan Schantz, P.M. 2008. *Toxoplasma gondii* and *Toxocara spp.* Co-infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 78 (1): 35–39.
- Karkos, P.D., Leong, S.C., Karkos, C.D., Sivaji, N. dan Assimakopoulos, D.A. 2008. *Spirulina* in Clinical Practice: Evidence-Based Human Application. Hindawi Publishing Corporation. 4p.
- Kim, L., Butcher, B.A., Lee, C.W., Uematsu, S., Akira, S. dan Denkers, E.Y. 2006. *Toxoplasma gondii* Genotype Determines MyD88-Dependent Signaling in Infected Macrophages. *J. of Immunol.*, 177: 2584–2593.
- Kodym, P., Machala, L., Rohacova, H., Sirocka, B. dan Maly, M. 2007. Evaluation of a commercial IgE ELISA in comparison with IgA and IgM ELISAs, IgG avidity assay and complement fixation for the diagnosis of acute toxoplasmosis. *Clinical Microbiol. and Infect.*, 13 (1): 40–47.
- Kozlenko, R. dan Henson, R.H. 1998. Latest scientific research on *Spirulina*: Effect in the AIDS Virus, Cancer and the Immune System (Online). <http://www.Health.Library.com>. Diakses September 2005.
- Lee, A.N. dan Werth, V.P. 2004. Activation of Autoimmunity Following Use of Immunostimulatory Herbal Supplements. *Arch Dermatol*, 140: 723–727.
- Oliveira, E.G., Rosa, G.S., Moraes, M.A. dan Pinto, L.A.A. 2008. Phycocyanin Content of *Spirulina platensis* Dried in Spouted Bed and Thin Layer. *J. Food Proc. Eng.*, 31 (1): 34–50.
- Oliveira, E.G., Rosa, G.S., Moraes, M.A. dan Pinto, L.A.A. 2009. Moisture Sorption Characteristics of Microalgae *Spirulina platensis*. *Brazil. J. of Chem. Eng.*, 26 (01): 189–197.
- Qureshi, M.A., Ali, R.A. dan Hunter, R.L. 1995. Immunomodulatory effects of *Spirulina platensis* supplementation in chickens. North Carolina State. Pub. In. *Proc. Of the 44th Western Poultry Diseases Conference*. Poultry Science Society. Sacramento. California. Pp 117–120.

- Qureshi, M.A., Kidd, M.T. dan Ali, R.A. In press. *Spirulina platensis* extract enhances chicken macrophage functions after in vitro exposure. *J. of Nutritional Immunology*.
- Ray, S., Roy, K. dan Sengupta, C. 2007. Evaluation of protective effects of water extract of *Spirulina platensis* (blue green algae) on cisplatin-induced lipid peroxidation. *Indian J. of Pharmaceut. Science*, 69 (3): 378–383.
- Saeij, J.P.J., Collier, S., Boyle, J.P., Jerome, M.E., White, M.W. dan Boothroyd, J.C. 2007. Toxoplasma co-opts host gene expression by injection of a polymorphic kinase homologue. *Nature*, 445: 324–327.
- Sakai, M. 1998. Current research status of fish immunostimulants. *J. Aquacult.*, 172 (1999): 63–92.
- Simanjuntak, S.B.I., Darnas, D., Achmad, M.W. dan Hambali, S. 2002. Efektivitas *Spirulina* sebagai Imunostimulan pada Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal* Bleeker). *J. Biologi Indonesia*, III (3): 209–218.
- Simanjuntak, S.B.I., Darnas, D., Achmad, M.W. dan Hambali, S. 2003. Histopatologis Organ Limpa dan Ginjal Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal* Bleeker) akibat Pemberian *Spirulina* dalam Pakan secara Diskontinyu. *Biosfera*, 20 (2): 62–66.
- Simanjuntak, S.B.I., Edy, Y. dan Farida, N.R. 2004. Pengaruh Penyuplemenan *Spirulina* dalam Pakan terhadap Hematologis Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.). *J. Pembangunan Pedesaan*, 6 (2): 84–88.
- Simsek, N., Karadeniz, A. dan Karaca, T. 2007. Effects of the *Spirulina platensis* and *Panax ginseng* oral supplementation on peripheral blood cells in rats. *Revue Medical Veteriner*, 158 (10): 483–488.
- Simpore, J., Pignatelli, S. dan Musumeci, S. 2007. The effects of Spiruline on the immune functions of HIV-infected undernourished children. *J. Infect Developing Countries*, 1 (2): 112–117.
- Singh, S. 2003. Mother-to-child transmission and diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. *Indian J. Med. Microbiol.*, 21: 69–76.
- Sotiriadou, I. dan Karanis, P. 2008. Evaluation of loop-mediated isothermal amplification for detection of *Toxoplasma gondii* in water samples and comparative findings by polymerase chain reaction and immunofluorescence test (IFT). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 62: 357–365.
- Tietze, H.W. 2004. *Spirulina*. Micro Food, Macro Blessing. Fourth Edition. Harald W. Tietze Publishing. Australia.
- Yang, L., Wang, Y., Zhou, Q., Chen, P., Wang, Y., Wang, Y., Liu, T. dan Xie, L. 2009. Inhibitory effects of polysaccharide extract from *Spirulina platensis* on corneal neovascularization. *Molecular Vision*, 15: 1951–1961.