

# **Pengaruh pemberian ekstrak kulit buah delima merah (*Punica granatum*) terhadap jumlah dan jenis leukosit pada tikus putih yang dipapar gelombang elektromagnetik ponsel**

## **The effect of red pomegranate (*Punica ganatum*) peel extract on leukocyte number and type in rats exposed with mobile phone electromagnetic radiation**

**MULKI RAKHMAWATI, ISNA QADRIYATI, LILIK WIJAYANTI**

Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 4 Agustus 2011. Revisi disetujui: 29 Agustus 2011.

**Abstract.** *Rakhmawati M, Qadriyati I, Wijayanti L. 2011. The effect of red pomegranate (Punica granatum) peel extract on leukocyte number and type in rats exposed with mobile phone electromagnetic radiation. Biofarmasi 9: 55-61.* This research aimed to examine the effect of red pomegranate (*Punica granatum*) peel extract on leukocyte number and type in rats exposed with mobile phone electromagnetic radiation. This study was a laboratory experimental post-test only control group design. The subjects used were 32 male rats, divided into 4 groups: (i) control group, (ii) mobile phone electromagnetic radiation-exposed group for 4 hour/day for 14 days, (iii) mobile phone electromagnetic radiation-exposed group for 4 hour/ day for 14 days with red pomegranate peel extract 50 mg/kg weight body in pre and during exposed, and (iv) mobile phone electromagnetic radiation-exposed group for 4 hour/day for 14 days with red pomegranate peel extract 50 mg/kg body weight pre, during and post-exposed. After 41 days, blood was collected in a clean tube with EDTA from orbital sinus of rats. Blood was used for leukocyte number and type in Pathology Clinic Laboratory, Faculty of Medicine, Sebelas Maret University. The data obtained were statistically analyzed with independent t-test by using SPSS Program for Microsoft Windows release 16.0 with a significance level at  $p < 0.05$ . The results showed that red pomegranate peel extract decrease the leukocyte number than only exposed to mobile phone electromagnetic radiation group. The treatment of red pomegranate peel extract decreased for eosinophil, lymphocyte and monocyte, while for neutrophil, the treatment of red pomegranate peel extract showed increase than only exposed with mobile phone electromagnetic radiation group. Statistical analysis with independent t-test showed that the result was significant between group 1 and 3, and between group 2 and 3 of leukocyte number, but no significant for other groups. Meanwhile, the result of independent t-test showed no significant between all groups of the type of leukocyte. The experiment result showed that red pomegranate peel extract can significantly decrease the leukocyte number in rats exposed with mobile phone electromagnetic radiation ( $p < 0.05$ ), but no significant for different count ( $p > 0.05$ ).

**Keywords:** Leukocyte number, leukocyte type, mobile phone electromagnetic radiation, *Punica ganatum*, red pomegranate peel

## **PENDAHULUAN**

Penggunaan ponsel pada beberapa tahun terakhir meningkat sangat pesat. Suatu studi yang telah dilakukan oleh lembaga penelitian *Research on Asia Group* (ROA) mengungkapkan perkembangan pasar telepon seluler di Indonesia yang terus tumbuh pesat. Disebutkan juga pengguna telepon seluler di Indonesia tercatat sebanyak 68 juta pada akhir tahun 2006 dan akan tumbuh menjadi 94,7 juta pada tahun 2007. Pada tahun 2010, angka pengguna telepon seluler di Indonesia pun diprediksikan mencapai angka 133 juta orang. Dengan kata lain, sekitar separuh dari seluruh populasi negeri ini yang diperkirakan mencapai 250 juta jiwa, merupakan pengguna telepon seluler. Dengan demikian, Indonesia pun akan menempati peringkat ketiga pasar telepon seluler terbesar di Asia setelah Cina dan India (Mahardika 2009).

Di Afrika, Eropa, Timur Tengah, dan Asia, *provider* ponsel memakai frekuensi 900 MHz dan 1800 MHz. Hanya sedikit operator yang memakai frekuensi DCS-1800

dan GSM-1800. GSM 900 MHz dipakai secara lebih luas di berbagai daerah (Rappaport 2002).

Peningkatan jumlah pengguna ponsel membuat banyak orang terpapar oleh radiasi gelombang elektromagnetik *radiofrequency* (RF). Fenomena tersebut menimbulkan pertanyaan terkait efek biologis dan konsekuensi kesehatan, terutama pada pemaparan dalam jangka waktu yang panjang. Saat ini, hubungan antara risiko kanker dan pemaparan radiasi gelombang elektromagnetik *radiofrequency* (RF) terus berlanjut menjadi perdebatan (Maschevich et al. 2003) Efek gelombang elektromagnetik tergantung jenis, frekuensi, energi, dan durasi paparan (Balmori 2005). Energi yang ditimbulkan oleh radiasi elektromagnetik ponsel secara kuantitas relatif kecil, namun apabila jarak antara ponsel dengan kepala diperhitungkan maka dampak radiasi elektromagnetik yang dipancarkan oleh ponsel tidak boleh diabaikan. Hal ini disebabkan intensitas radiasi elektromagnetik yang diterima oleh materi akan berbanding terbalik dengan kuadrat jarak, artinya semakin dekat dengan sumber radiasi (ponsel) akan semakin besar radiasi yang diterima

(Wardhana 2000). Hasil penelitian menunjukkan adanya hubungan antara paparan gelombang elektromagnetik yang berasal dari peralatan listrik, seperti televisi, monitor, komputer, *microwave oven*, dan telepon seluler dengan timbulnya kanker dan leukemia (Athena dan Sujur 2000).

Liboh et al. (1984) dalam Mansyur (1998) pada penelitiannya melihat adanya peningkatan sintesis DNA pada kultur fibroblas manusia yang terpapar gelombang elektromagnetik. Hasil penelitian Cadossi et al. (1992) dalam Mansyur (1998) menunjukkan adanya peningkatan proliferasi limfosit, hal ini diduga selain sejalan dengan peningkatan sintesis DNA, dan apabila tidak terkendali akan mengarah pada keganasan.

Untuk memperlambat proses perusakan, diperlukan antioksidan tambahan dari luar tubuh. Namun, penggunaan antioksidan sintetik dewasa ini mulai mendapat perhatian serius karena terdapat antioksidan sintetik yang bersifat merugikan. Oleh karena itu, pengembangan antioksidan yang berasal dari alam, yang relatif lebih mudah didapat dan aman, tengah digalakkan saat ini (Rahman 2007).

Salah satu sumber antioksidan alami yang banyak diteliti adalah buah delima merah (*Punica granatum*). Buah delima merah diketahui mengandung senyawa polifenol yang berkhasiat sebagai antioksidan (Yasoubi et al. 2007). Bagian pohon delima merah, seperti buah, kulit, dan akar, mempunyai rasa yang sepat. Rasa sepat tersebut merupakan tanda bahwa di dalam bagian tanaman tersebut mengandung tanin yang merupakan senyawa polifenol (Wiryowidagdo 2007).

Hasil penelitian yang pernah dilakukan oleh Lansky dan Newman (2007) tentang kandungan senyawa kimia pada buah delima merah diantaranya meliputi *quercetin*, *kaempferol*, *luteolin*, dan derivat-derivatnya, salah satu atau semuanya. Kandungan polifenol delima merah terdiri dari dua komponen, yaitu antosianin (*delphinidin*, *cyanidin*, dan *pelargonidin*) yang memberikan kulit buah dan daging buah berwarna merah, serta tanin yang larut air seperti *punicalagin*, *pedunculagin*, *punicalin*, *gallagic*, dan *asam ellagic ester* dari glukosa, yang menyumbangkan 92% sifat antioksidan. Kandungan tanin yang berfungsi sebagai antioksidan banyak terdapat pada kulit buah yaitu sekitar 26% (Ferlina 2009).

Ekstrak buah delima merah terbukti secara *in vitro* memiliki efek antioksidan yang kuat dan dapat bersifat kemopreventif dan kemoterapis pada sel kanker prostat yang diuji dengan sifat antiproliferasi dan pro-apoptosis (Malik et al. 2005).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit buah delima merah terhadap jumlah dan jenis leukosit pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang dipapar dengan gelombang elektromagnetik 900 MHz.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

### Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan meliputi timbangan dan wadah untuk menimbang berat badan tikus, kandang tikus berbentuk kotak (60x30x30 cm<sup>3</sup>) yang dilengkapi dengan tempat pakan dan minum, ponsel 900 MHz 3 buah, tabung mikrokapiler berukuran 1,5 ml, tabung reaksi untuk menampung sampel darah, rak tabung reaksi, pipet, mikroskop, bilik hitung *Improved Neuber*, sonde lambung, *object glass*, dan *cover glass*.

Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan yaitu makanan dan minuman hewan percobaan (*pellet* dan air PAM), ekstrak buah delima merah, EDTA, larutan Turk, larutan Giemsa, metil alkohol, akuades.

### Jenis penelitian

Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental laboratorik (Arief 2004).

### Subjek penelitian

Subjek penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dengan umur kurang lebih 2 bulan, jenis kelamin jantan, dan berat  $\pm 200$  gram yang dikembangkan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM, Yogyakarta.

### Teknik sampling

Pengelompokan sampel dilakukan dengan teknik sampel *simple random sampling*. Setiap subjek penelitian diberi nomor urut terlebih dahulu kemudian ditulis pada secarik kertas dan dimasukkan ke dalam kotak untuk dikocok. Kemudian diambil satu per satu kertas itu sejumlah ukuran sampel yang dikehendaki tanpa dimasukkan kembali kertas yang telah terambil. Setiap subjek yang nomor urutnya terambil menjadi anggota kelompok sampel (Arief 2004). Sampel dibagi menjadi empat kelompok secara random. Besar sampel tiap kelompok dihitung dengan rumus Federer seperti yang ditulis oleh Sastrosupadi (Wiryawan dan Wahyuniari 2009).

$$(n-1)(t-1) > 15$$

$$(n-1)(4-1) > 15$$

$$3n > 18$$

$$n > 6$$

Keterangan:

n = jumlah sampel tiap kelompok

t = jumlah kelompok

Berdasarkan perhitungan tersebut maka jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah 6 ekor tikus putih untuk setiap kelompok. Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan 8 tikus dalam tiap kelompok, sehingga besar sampel yang digunakan adalah 32 ekor tikus.

Penelitian ini menggunakan rancangan *The Post-test Only Control Group Design* (Arief 2004).

## Cara kerja

### Rancangan percobaan

Perlakuan ekstrak kulit buah delima merah pada masing-masing kelompok hewan uji sebagai berikut: (i) K = Kelompok kontrol, tanpa diberi ekstrak kulit buah delima merah maupun paparan gelombang elektromagnetik ponsel. (ii) P1 = Kelompok perlakuan I, dipapar dengan gelombang elektromagnetik ponsel selama 4 jam setiap hari pada pukul 7.00 sampai 11.00 selama 14 hari. (iii) P2 = Kelompok perlakuan II, diberi ekstrak kulit buah delima merah secara per oral 50 mg/kg BB tikus/hari selama 10 hari sebelum dan selama pemaparan gelombang elektromagnetik. Gelombang elektromagnetik dipaparkan pada hari ke-11 sampai hari ke-24 selama 4 jam setiap hari pada pukul 7.00 sampai 11.00. (iv) P3 = Kelompok perlakuan III, diberi ekstrak kulit buah delima merah secara per oral 50 mg/kg BB tikus/hari selama 10 hari sebelum pemaparan, selama pemaparan, dan 10 hari sesudah pemaparan gelombang elektromagnetik. Paparan gelombang elektromagnetik ponsel diberikan mulai hari ke-11 sampai hari ke-24 selama 4 jam setiap hari pada pukul 7.00 sampai 11.00.

### Persiapan percobaan

Sampel adalah tikus putih galur Wistar dengan umur kurang lebih 2 bulan jenis kelamin jantan dan berat  $\pm 200$  gram. Kemudian tikus diadaptasikan di Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret Surakarta selama 7 hari dan dilakukan pengelompokan dengan teknik *simple random sampling*. Setiap subjek penelitian diberi nomor urut terlebih dahulu kemudian ditulis pada secarik kertas dan dimasukkan ke dalam kotak untuk dikocok. Kemudian diambil satu per satu kertas tersebut sejumlah ukuran sampel yang dikehendaki tanpa dimasukkan kembali kertas yang telah terambil. Setiap subjek yang nomor urutnya terambil menjadi anggota kelompok sampel (Arief 2004). Sampel dikelompokkan menjadi 4 kelompok. Tiap kelompok berjumlah 8 ekor. Pada hari pertama dilakukan penimbangan dan penandaan pada tikus.

Ekstraksi kulit buah delima merah dilakukan di LPPT UGM Yogyakarta dengan menggunakan metode ekstraksi etanol dengan cara maserasi. Kulit buah delima merah halus dimasukkan ke dalam sebuah bejana kemudian ditambahkan etanol 90%, ditutup rapat, dan dibiarkan selama 3 hari, terlindung dari cahaya matahari sambil diaduk sesekali setiap hari. Ekstrak etanol cair sampel tersebut dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat etanol (Darmawan 2004). Bentuk akhir ekstrak kulit buah delima merah adalah pasta atau semisolid. Dosis yang diberikan sebesar 50 mg/kg BB tikus/hari (Toklu et al. 2009). Apabila setiap tikus mempunyai berat 200 gram maka dosisi ekstrak kulit buah delima merah yang diberikan sebesar:

$$\text{Dosis 1 ekor tikus} = \frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ grBB}} \times 200 \text{ gram BB} = 10 \text{ mg}$$

Volume cairan maksimal yang dapat diberikan secara per oral pada tikus adalah 5 ml/100 g BB tikus (Ngatijan 1991), disarankan takaran pemberian tidak melebihi setengah kali volume maksimalnya. Oleh karena itu dilakukan pengenceran ekstrak dengan rincian 1 gram ekstrak dilarutkan dalam 100 ml.

$$\begin{aligned} \text{Pengenceran ekstrak} &= \frac{1 \text{ gr ekstrak}}{100 \text{ ml larutan}} = \frac{1000 \text{ mg ekstrak}}{100 \text{ ml larutan}} \\ &= 10 \text{ mg ekstrak dalam 1 ml larutan} \end{aligned}$$

Apabila dosis untuk tiap tikus adalah 10 mg maka volume ekstrak yang diberikan adalah 1 ml tiap tikus. Berdasarkan perhitungan dosis, jumlah sampel, dan lama pemberian maka ekstrak kulit buah delima merah yang dibutuhkan selama penelitian adalah:

$$\begin{aligned} &= (10 \text{ mg} \times 8 \text{ tikus} \times 35 \text{ hari}) + (10 \text{ mg} \times 8 \text{ tikus} \times 25 \text{ hari}) \\ &= 4800 \text{ mg} \end{aligned}$$

Bahan dasar yang digunakan untuk mendapatkan 4800 mg ekstrak kulit buah delima adalah buah delima sebanyak 3 kg. Penyimpanan ekstrak selama pemakaian adalah di dalam *freezer*, dengan suhu di bawah 0°C, agar bakteri tidak berkembang dan unsur-unsur aktif ekstrak kulit delima merah tidak berubah atau memburuk kualitasnya.

Ponsel GSM dengan frekuensi 900 MHz diletakkan di dalam kandang tikus. Setiap kelompok satu ponsel. Ponsel ditelepon selama 4 jam/hari pada pukul 07.00 sampai 11.00 selama 14 hari pada kelompok P1, P2, dan P3.

Hewan uji ditempatkan dalam kandang yang terbuat dari kayu dengan luas 3600 cm<sup>2</sup> (60x30x30 cm<sup>3</sup>). Setiap kandang dapat menampung setiap kelompok (8 ekor hewan uji).

### Pelaksanaan percobaan

Pada minggu I, keempat kelompok perlakuan diberi *pellet* BR2 dan air PAM agar semua tikus dapat beradaptasi dengan lingkungan baru. Pada minggu II mulai diberikan perlakuan yang berbeda pada masing-masing kelompok. Sebelumnya, masing-masing tikus ditimbang untuk menentukan dosis perlakuan.

Pada minggu II, kelompok P1 dipapar dengan gelombang elektromagnetik yang berasal dari ponsel selama 4 jam setiap hari selama 14 hari. Kelompok P2 dan P3 diberi ekstrak buah delima merah terlebih dahulu selama 10 hari, kemudian pada hari kesebelas dipapar dengan gelombang elektromagnetik ponsel dan ekstrak buah delima merah tetap diteruskan. Setelah pemaparan, pemberian ekstrak kulit buah delima merah pada kelompok P2 dihentikan, sedangkan pada kelompok P3 pemberian ekstrak buah delima merah masih diteruskan sampai 10 hari setelah pemaparan.

### Metode pengumpulan data

Pengumpulan data dilakukan dengan perhitungan jumlah leukosit dengan papan bilik *Improved Bauer* dan pembacaan hemogram leukosit darah dengan metode apusan dari sampel darah.

#### *Perhitungan jumlah leukosit*

Darah yang sudah dicampur dengan EDTA diisi dengan pipet darah sampai tanda 0,5. Selanjutnya, ujung pipet dimasukkan ke dalam larutan Turk sambil darah ditahan tetap pada garis 0,5. Pipet dipegang dengan arah 45° dan larutan Turk dimasukkan hingga tanda 11. Pipet diangkat dari cairan, ujung pipet ditutup dengan ujung jari, lalu karet pengisap dilepas. Pipet dikocok selama 15-30 detik. Setelah itu, pipet ditaruh secara horizontal. Setelah pengisian pipet leukosit, kamar hitung disiapkan. Kamar hitung yang bersih beserta kaca penutupnya diletakkan mendatar di atas meja.

Pipet yang telah dipersiapkan dikocok selama 3 menit secara terus-menerus. Semua cairan yang terdapat di dalam batang kapiler pipet (3-4 tetes) dibuang dan ujung pipet segera disentuh dengan sudut 30° pada permukaan kamar hitung dengan menyinggung pinggir kaca penutup. Kamar hitung dibiarkan terisi cairan secara perlahan-lahan dengan daya kapilaritasnya sendiri.

Kamar hitung dibiarkan selama 2 atau 3 menit supaya leukosit dapat mengendap. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan lensa objektif dengan pembesaran 10 kali. Diamati leukosit yang terdapat dalam keempat bidang, dari sudut ke sudut, dari kanan ke kiri, dan dari atas ke bawah. Pengenceran yang dilakukan dalam pipet adalah 20 kali.

#### *Perhitungan jenis leukosit*

Darah diambil dengan pipet, lalu ditaruh pada pinggir kanan *object glass* dengan diameter kurang lebih 2 cm. Dengan menggunakan tangan kanan, *object glass* lain diletakkan di sebelah kiri tetesan darah tersebut dan digerakkan ke kanan, sehingga tetesan darah akan menyebar pada sisi kaca penggeser tersebut. Dengan segera kaca tersebut digeserkan ke kiri sambil dipegang miring dengan sudut antara 30-45° (tanpa ditekan). Selanjutnya, sediaan tersebut dibiarkan mengering di udara. Setelah kering, sediaan tersebut diletakkan di atas rak pulas dengan lapisan darah di bagian atas. Di atas sediaan ditetaskan metilalkohol hingga bagian yang terlapis darah tertutup semuanya kemudian sediaan dibiarkan selama 5 menit. Kelebihan metilalkohol dituang dari kaca. Sediaan ditutup dengan Giemsa yang telah diencerkan dengan larutan penyangga dan biarkan selama 20 menit kemudian dibilas dengan air suling. Sediaan diletakkan secara vertikal dan dibiarkan mengering di udara.

#### **Analisis data**

Untuk mengetahui hubungan antara dua variabel pada kelompok yang tidak berpasangan dengan data yang berupa data numerik maka dilakukan uji-t tidak berpasangan. Sebelumnya dilakukan uji normalitas Shapiro-Wilk untuk mengetahui distribusi data. Data yang diperoleh harus terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) sebagai syarat uji-t tidak berpasangan. Namun, jika ternyata hasil uji Shapiro-Wilk menunjukkan distribusi data yang tidak normal maka uji hipotesis yang dipakai adalah salah satu jenis tes nonparametrik yang sesuai, yaitu uji Mann-Whitney.

Varians data diuji dengan menggunakan uji Levene. Varians data boleh sama ( $p > 0,05$ ) ataupun berbeda ( $p < 0,05$ ). Untuk menentukan nilai signifikansi ( $p$ ) pada uji-

t tidak berpasangan, terlebih dahulu dilihat nilai signifikansinya pada uji Levene. Apabila varians data sama ( $p > 0,05$ ) maka untuk melihat uji-t tidak berpasangan digunakan hasil pada baris pertama (*equal variances assumed*), sedangkan apabila varians data berbeda ( $p < 0,05$ ) maka untuk melihat uji-t tidak berpasangan digunakan hasil pada baris kedua (*equal variances not assumed*). Nilai  $p < 0,05$  berarti terdapat pengaruh ekstrak kulit buah delima merah terhadap jumlah leukosit dan tipe leukosit tikus putih, sedangkan nilai  $p > 0,05$  menunjukkan tidak ada pengaruh ekstrak kulit buah delima merah terhadap jumlah leukosit dan tipe leukosit tikus putih (Sopiyudin 2008).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Jumlah leukosit**

Rerata jumlah leukosit dari setiap kelompok perlakuan ditunjukkan pada Tabel 1. Hasil uji-t tidak berpasangan jumlah leukosit pada kelompok K dan P1 menunjukkan bahwa paparan gelombang elektromagnetik meningkatkan jumlah leukosit namun tidak signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa gelombang elektromagnetik ponsel mampu menyebabkan terjadinya stres fisik dan berefek pada jumlah leukosit meskipun tidak signifikan secara statistik. Hal ini diduga terjadi akibat paparan radiasi gelombang elektromagnetik ponsel yang diterima subjek pada kelompok P1 masih dalam fase *alarm reaction*, dimana sel masih mampu bertahan menghadapi *stressor*. Pernyataan tersebut sesuai dengan pendapat Kolomytseva et al. (2002), Putra (2005), Elyana (2005), Supardi dan Rosid (2003), dan Guyton dan Hall (1997), yang mengungkapkan bahwa gelombang elektromagnetik ponsel dapat menginduksi terjadinya stres fisik dan perubahan pada leukosit.

Stres yang terjadi pada individu berdampak pada berbagai sel tubuh, termasuk sel saraf. Stres menstimulasi pembentukan sitokin pro-inflamasi, seperti IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ , dan IFN $\gamma$  oleh sel imun tubuh. Stres juga secara langsung menyebabkan neuron aktif mensintesis berbagai *neurotransmitter*. Pembentukan *neurotransmitter* oleh neuron tersebut juga distimulasi oleh adanya sitokin pro-inflamasi. Semua sinyal terkait stres, termasuk *neurotransmitter* dan sitokin, akan mengalami integrasi di *hypothalamus*, khususnya nukleus paraventriculer, dimana *neurotransmitter* dan sitokin bekerja untuk merangsang atau menghambat sekresi *Corticotropin Releasing Factor* (CRF). CRF merupakan substansi utama yang berperan dalam merambatkan sinyal *stressor* ke sistem imun. CRF merangsang pituitari untuk sekresi ACTH. Selanjutnya, ACTH ditangkap oleh sel-sel di korteks adrenal yang kemudian mengeluarkan glukokortikoid, sedangkan medula adrenal mengeluarkan *epinephrine* (EPI) dan *norepinephrine* (NE) (Putra 2005).

Di bagian perifer, sistem imun dapat dipengaruhi secara langsung oleh sistem saraf otonom. Katekolamin yang dihasilkan oleh saraf simpatis dapat menginduksi pengosongan *noradrenaline* (NA) di Sistem Saraf Otonom (SSO) dan merusak sistem imun. Sistem saraf parasimpatis juga memiliki peran yang penting pada neuromodulasi.

Suatu penelitian menunjukkan bahwa asetilkolin (kolinergik) secara signifikan meningkatkan proliferasi sel T. Kerja saraf NA berlawanan dengan sistem kolinergik, hal ini berfungsi untuk menjaga keseimbangan yang harmonis (Baratawidjaja 2006).

Kemampuan individu untuk tetap mempertahankan kondisi tubuhnya ketika terpapar stres tergantung pada kemampuannya dalam mengelola *stressor*. Mekanisme dalam mengelola *stressor* disebut sebagai *coping mechanism*. *Coping mechanism* merupakan usaha dari individu untuk mengurangi atau bertahan terhadap perubahan-perubahan, baik internal maupun eksternal, yang disebabkan oleh *stressor* (Moeliono 2005).

Teori Selye menyebutkan bahwa adaptasi individu terhadap *stressor* bervariasi. Menurut teori Selye, terdapat fase-fase reaksi psikologis yang disebut *general adaptation syndrome*. *General adaptation syndrome* terdiri dari tiga fase. Fase pertama adalah *fase alarm reaction* yang analog dengan mekanisme *fight or flight*. Pada fase ini, tubuh berusaha untuk bertahan dari *stressor* melalui sistem endokrin. Fase kedua adalah *fase stage of resistance*. Pada fase ini, tubuh berusaha untuk bertahan dan beradaptasi dengan *stressor*. Fase terakhir adalah *stage of exhaustion*. Fase ini dimulai ketika sistem imun melemah dan menghabiskan energi tubuh hingga pertahanan tubuh sangat terbatas (Sarafino 1994).

Hasil uji-t tidak berpasangan jumlah leukosit pada kelompok K dan P2 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit buah delima merah selama paparan dengan dosis 50 mg/kg BB tikus/hari dapat meningkatkan jumlah leukosit dibandingkan dengan kelompok kontrol (K) tetapi tidak signifikan. Adapun pada kelompok K dan P3 menunjukkan pemberian ekstrak kulit buah delima merah selama dan setelah paparan dengan dosis 50 mg/kg BB tikus/hari dapat menurunkan jumlah leukosit dibandingkan dengan kelompok kontrol tetapi tidak signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit delima merah memberikan efek antiproliferasi pada P2 dan P3 yang terpapar gelombang elektromagnetik, tetapi efeknya tidak signifikan secara statistik.

Hasil uji-t tidak berpasangan jumlah leukosit pada kelompok P1 dan P2 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit buah delima merah selama paparan dengan dosis 50 mg/kg BB tikus/hari dapat menurunkan jumlah leukosit dibandingkan dengan kelompok terpapar gelombang elektromagnetik tanpa pemberian ekstrak delima merah tetapi tidak signifikan. Hasil uji-t tidak berpasangan jumlah leukosit pada kelompok P1 dan P3 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit buah delima merah selama dan sesudah paparan dengan dosis 50 mg/kg BB tikus/hari dapat menurunkan jumlah leukosit dibandingkan dengan

kelompok yang hanya diberi ekstrak delima selama paparan dan hasilnya juga signifikan.

Dari uraian tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak delima merah dengan dosis 50 mg/kg BB tikus/hari sebelum, selama, dan sesudah paparan dapat menurunkan proliferasi leukosit akibat paparan gelombang elektromagnetik ponsel. Hal ini sesuai dengan pendapat Manian et al. (2000) dan Negi et al. (2003) bahwa aktivitas penghambatan radikal bebas sangat bergantung pada konsentrasi dan jumlah antioksidan yang digunakan. Pada umumnya, semua dosis ekstrak menunjukkan korelasi positif antara konsentrasi dan jumlah ekstrak sampai angka optimal dengan aktivitas antioksidannya.

Kulit buah delima merah yang selama ini tidak pernah dimanfaatkan ternyata menunjukkan aktivitas antioksidan yang cukup tinggi. Penelitian yang dilakukan oleh Ricci et al. (2006) menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak daging delima lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak kulit delima.

Kurang optimalnya penelitian ini diduga dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Antioksidan yang terlarut dalam kompleks etanol hanya sedikit membantu dalam efek penghambatan proliferasi sel, karena zat-zat aktif dalam ekstrak kulit buah delima merah larut dalam etanol yang bersifat polar. Ekstrak dengan pelarut nonpolar, seperti air dan metanol, cenderung mempunyai kemampuan yang lebih baik dalam menghambat proliferasi sel dibanding ekstrak dengan pelarut lain. Hal ini disebabkan karena komponen atau senyawa yang berpotensi dalam penghambatan proliferasi sel diduga larut dalam pelarut polar dan sulit larut pada pelarut nonpolar (Yuana 1998).

Kecenderungan kemampuan penghambatan proliferasi sel yang ditunjukkan oleh ekstraksi dengan pelarut nonpolar diduga disebabkan oleh kandungan senyawa yang bersifat antiproliferasi maupun toksik terhadap sel-sel tubuh. Senyawa tersebut dapat berupa senyawa fenolik yang selain bersifat antiproliferasi, yaitu mampu menghambat sintesis DNA, juga dapat bersifat toksik yaitu dengan bereaksi dengan membran sel, sehingga membran sitoplasma rusak yang mengakibatkan keluarnya komponen sitoplasma sel (Yuana 1998).

Pengaruh penghambatan proliferasi sel pada suatu senyawa tertentu biasanya dengan menekan pertumbuhan dan menimbulkan toksisitas, yaitu dengan menghambat pembelahan sel normal yang proliferasinya cepat (Gan dan Nafrialdi 2007). Sel-sel yang sedang berada pada tahap proliferasi lebih peka terhadap senyawa kimia toksik daripada sel yang tidak berproliferasi.

**Tabel 1.** Rerata jumlah leukosit dari setiap kelompok perlakuan

Kelompok perlakuan	Rerata $\pm$ SD ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )
K	10,40 $\pm$ 4,39
P1	11,01 $\pm$ 2,38
P2	10,91 $\pm$ 1,21
P3	8,56 $\pm$ 1,70

Keterangan: K, P1, P2, P3 = dijelaskan dalam metode

Tabel 2. Rerata hitung jenis leukosit pada setiap kelompok.

Kelompok	Rerata $\pm$ SD basofil	Rerata $\pm$ SD eosinofil	Rerata $\pm$ SD neutrofil	Rerata $\pm$ SD limfosit	Rerata $\pm$ SD monosit	Sel muda
K	0	1,75 $\pm$ 1,98	25,50 $\pm$ 13,68	71,00 $\pm$ 12,84	1,75 $\pm$ 1,03	0
P1	0	3,00 $\pm$ 2,39	24,25 $\pm$ 13,31	71,00 $\pm$ 12,94	1,75 $\pm$ 0,71	0
P2	0	1,14 $\pm$ 0,90	32,71 $\pm$ 10,19	64,57 $\pm$ 10,03	1,57 $\pm$ 0,53	0
P3	0	1,71 $\pm$ 1,25	32,00 $\pm$ 6,08	64,71 $\pm$ 5,99	1,57 $\pm$ 0,79	0

Pengaruh yang ditimbulkan kurang lebih sama dengan senyawa antiproliferasi yang dimiliki oleh bahan pangan lain, seperti anggur merah, *blueberry*, *cranberry*, teh hijau, dan teh hitam (Seeram et al. 2008). Selain itu, diduga mekanisme efek penghambatan terhadap proliferasi sel yang diberi perlakuan ekstrak kulit delima merah tersebut mirip dengan efek penghambatan dari pengobatan melalui kemoterapi. Pemberian ekstrak tersebut mempunyai sifat toksik yaitu adanya kontak langsung sel dengan zat aktif ekstrak. Zat aktif ekstrak tersebut akan masuk ke dalam sistem aliran darah dan bertemu dengan sel yang sedang mengalami proliferasi, sehingga dapat memberikan sifat toksik. Toksisitas tersebut dapat berupa pemecahan dinding sel, sitoplasma sel, inaktivasi DNA sel, serta inaktivasi senyawa-senyawa yang berperan dalam meningkatkan pertahanan tubuh, seperti sitokin dan limfokin (Seeram et al. 2008).

#### Jenis leukosit

Rata-rata jumlah eosinofil pada kelompok P1 meningkat dari jumlah kelompok kontrolnya, limfosit dan monosit tetap, sedangkan neutrofil menurun (Tabel 2). Namun, hasil uji-t tidak berpasangan untuk kelompok K dan P1 pada neutrofil, dan uji Mann-Whitney untuk kelompok K dan P1 pada limfosit, eosinofil, dan monosit menunjukkan hasil yang sama, yaitu tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Selain itu, neutrofil, eosinofil, limfosit, dan monosit yang ditemukan adalah sel-sel dewasa, serta tidak ditemukan sel-sel muda dalam lapang pandang sampel.

Rata-rata jumlah eosinofil, limfosit, dan monosit pada kelompok P2 dan P3 menunjukkan hasil yang lebih rendah daripada rata-rata eosinofil, limfosit, dan monosit pada kelompok K dan P1. Hal ini diduga disebabkan karena sifat antiproliferasi dari ekstrak delima, sedangkan hasil pada neutrofil adalah sebaliknya, yaitu kelompok K dan P1 lebih rendah daripada kelompok P2 dan P3. Namun, hasil uji-t tidak berpasangan untuk seluruh kelompok neutrofil, dan uji Mann-Whitney untuk seluruh kelompok limfosit, eosinofil, dan monosit menunjukkan hasil yang sama, yaitu tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

Penurunan jumlah cukup terlihat pada limfosit antara kelompok yang terpapar tetapi tidak diberi ekstrak dengan kelompok yang diberi ekstrak. Hal ini diduga terjadi karena limfosit adalah sel imun yang bekerja aktif ketika stres fisik terjadi. CRF dapat ditangkap langsung oleh reseptor CRF-R1 limfosit, sehingga perilaku limfosit berubah (Elyana 2005).

#### KESIMPULAN

Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak kulit buah delima merah (*P. granatum*) terhadap jumlah leukosit tikus putih (*R. novvergicus*) yang dipapar dengan gelombang elektromagnetik ponsel dengan tingkat signifikansi ( $p < 0,05$ ). Namun, untuk jenis leukosit, tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ ).

#### DAFTAR PUSTAKA

- Arief MTQ. 2004. Pengantar metodologi penelitian untuk ilmu kesehatan. The Community of Self Help Group Forum (CSGF), Klaten.
- Athena ATT, Sujur SOS. 2000. Kuat medan listrik dan medan magnet pada peralatan rumah tangga dan kantor. Buletin Penelitian Kesehatan 27(1): 170-179.
- Balmori A. 2005. Possible effects of electromagnetic fields from phone masts on a population of white stork (*Ciconia ciconia*). Electromagn Biol Med 24:109-119.
- Baratawidjaja KG. 2006. Immunologi dasar. Balai Penerbit FK UI, Jakarta.
- Darmawan A, Sundowo A, Fajriah S et al. 2004. Uji aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak metanol beberapa jenis benalu. Pusat Penelitian Kimia-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Kawasan PUSPIPTK, Serpong, Tangerang.
- Elyana SA. 2005. Psikoneuroimunologi kedokteran (modulasi imunitas sebagian respons terhadap renjatan listrik, suatu pendekatan psikoimunologi). Graha masyarakat Ilmiah, FK UNAIR, Surabaya.
- Ferlina S. 2009. Khasiat delima. www.khasiatku.com. [9 April 2010].
- Gan S, Nafrialdi. 2007. Farmakologi dan Terapi. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Guyton, Hall. 2007. Buku ajar fisiologi kedokteran. 11<sup>th</sup> edition. EGC, Jakarta.
- Kolomytseva MP, Gapeev AB, Sadovnikov VB et al. 2002. Suppression of nonspecific resistance of the body under the effect of extremely high frequency electromagnetic radiation of low intensity. Biofizika. 47(1): 71-77.
- Lansky EP, Newman. 2007. *Punica granatum* (Pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. J Ethnopharmacol 109(2): 177-206.
- Mahardika IP. 2009. Efek radiasi gelombang elektromagnetik ponsel terhadap kesehatan manusia. mahardikaholic.files.wordpress.com. [4 Maret 2010].
- Malik A, Afaq F, Safaraz S et al. 2005. Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. PNAS 102: 14813-14818.
- Manian R, Nagarajan A, Perumal S et al. 2000. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. Food Chem 107: 1000-1007.
- Mansyur M. 1998. Dampak medan elektromagnetik terhadap kesehatan. Majalah Kedokteran Indonesia 48(7): 264-269.
- Maschevich M, Dan F, Amit K et al. 2003. Exposure of human peripheral blood lymphocytes to electromagnetic fields associated with cellular

- phones leads to chromosomal instability. *Bioelectromagnetics* 24(2): 82-90.
- Moeljono N. 2005. Psikoneuroimunologi (psikologi sebagai dasar psikoneuroimunologi). Graha Masyarakat Ilmiah FK UNAIR, Surabaya.
- Negi PS, Jayaprakasha GK, Jena BS. 2003. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extract. *Food Chem* 80: 393-397.
- Ngatijan. 1991. Petunjuk laboratorium metode laboratorium dalam toksikologi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi UGM, Yogyakarta.
- Putra ST. 2005. Psikoneuroimunologi kedokteran. Gramik FK UNAIR, Surabaya.
- Rahman A. 2007. Analisis kandungan antioksidan dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan uji aktivitasnya pada asam oleat. [www.digilib.ui.ac.id](http://www.digilib.ui.ac.id). [4 Maret 2010].
- Rappaport TS. 2002. *Wireless communications: Principles and practices*. 2<sup>nd</sup> edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.
- Ricci D, Giamperi L, Bucchini A. 2006. Antioxidant activity of *Punica granatum* fruits. *Fitoterapia* 77: 310-312.
- Sarafino EP. 1994. *Health psychology*. John Wiley and Sons Inc., USA.
- Seeram NP, Aviram M, Zhang Y et al. 2008. Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. *J Agric Food Chem* 56: 1415-1422.
- Sopiyudin. 2008. *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan*. PT. ARKANS Entertainment and Education in Harmony, Jakarta.
- Supardi A, Al Rosid H. 2003. Pengaruh perubahan konfigurasi saluran transmisi terhadap intensitas magnet. *Jurnal Teknik Elektro dan Komputer* 3(2): 41-44.
- Toklu HZ, Seherli O, Ozyurt H et al. 2009. *Punica granatum* peel extract protects against ionizing radiation-induced enteritis and leukocyte apoptosis in rats. *J Radiat Res* 50: 345-353.
- Wardhana WA. 2000. Dampak radiasi gelombang elektromagnetik ponsel. [elektroindonesia.com](http://elektroindonesia.com). [4 Maret 2010].
- Wiryanan IGNS, Wahyuniari IAI. 2009. Ekstrak biji klabet menurunkan jumlah sel spermatozoa pada kelinci. *Jurnal Veteriner* 10(2): 71-76.
- Wiryowidagdo S. 2007. Delima (*Punica granatum* L.) obat tradisional Indonesia yang merupakan sumber antioksidan. [www.isfinational.or.id](http://www.isfinational.or.id). [25 Maret 2010].
- Yasoubi P, Barzegarl M, Sahari MA et al. 2007. Total phenolic content and antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extracts. *J Agric Sci Technol* 9: 35-42.
- Yuana. 1998. Pengaruh Ekstrak Jahe Terhadap Proliferasi Sel Limfosit dan Beberapa Alur Sel Kanker secara In Vitro. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.