

Uji *in vitro* minuman fungsional kolagen dan komponen penyusunnya terhadap indeks dan kapasitas fagositosis makrofag peritoneal mencit BALB/c

In vitro assay of collagen functional drink and its component on the phagocytosis index and capacity of peritoneal macrophages of BALB/c mice

Rincha Milenio Takwa Agastian Situmorang¹, Mae Sri Hartati Wahyuningsih², Lily Arsanti Lestari^{1,3*}

¹Departemen Gizi Kesehatan, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

²Departemen Farmakologi dan Terapi, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

³Pusat Kesehatan dan Gizi Manusia, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

ABSTRACT

Background: Collagen functional drinks have rapidly grown in both sales and consumption. This is due to the rise in healthy lifestyles and consumer awareness of a healthier, more beautiful skin. Collagen is a bioactive compound that supports the immune system and acts as a skin-firming agent. **Objective:** This study aimed to evaluate the effect of collagen drinks and their components: collagen, vitamin C, and inulin, on the phagocytosis index and capacity of peritoneal macrophages *in vitro*. **Methods:** Macrophages were isolated from the peritoneal fluid of BALB/c mice (*Mus musculus*). The *in vitro* phagocytosis index and capacity were measured after macrophage cells were incubated with samples and latex particles. There were 5 treatments in this experiment: collagen, inulin, vitamin C, a collagen drink, and a control group. **Results:** Administering functional collagen drinks and their components increased the phagocytosis index ($p=0.033$). The addition of vitamin C to macrophage cells showed the highest phagocytosis index, namely 1.94 ± 0.02 , and a similar effect was found in the functional collagen drink (1.89 ± 0.26), followed by collagen (1.39 ± 0.75) and inulin (1.33 ± 0.60). Meanwhile, phagocytosis capacity did not differ significantly across all treatment groups ($p=0.628$), with values ranging from 41% to 73%. **Conclusion:** Functional collagen beverages have potential as immunostimulatory food products, as indicated by a higher phagocytosis index than the control group. However, further *in vivo* research and clinical trials are needed to confirm their immunostimulatory effects.

KEYWORDS: collagen functional drink; inulin; latex particles; phagocytosis capacity; phagocytosis index

ABSTRAK

Latar belakang: Minuman fungsional kolagen mengalami peningkatan pesat baik dari segi penjualan maupun konsumsi. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya gaya hidup yang sehat serta kesadaran konsumen akan tampilan kulit wajah yang lebih sehat dan cantik. Kolagen merupakan senyawa bioaktif yang berperan pada sistem imun dan dapat mengencangkan kulit. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh minuman fungsional kolagen dan komponen penyusunnya yaitu kolagen, vitamin C, dan inulin pada indeks dan kapasitas fagositosis makrofag peritoneal *in vitro*. **Metode:** Sel makrofag diisolasi dari cairan peritoneal mencit (*Mus musculus*) galur BALB/c. Indeks fagositosis dan kapasitas fagositosis secara *in vitro* diukur setelah pemberian sampel dan partikel lateks pada kultur sel makrofag. Terdapat 5 perlakuan pada penelitian ini yaitu kelompok yang diberi kolagen, inulin, vitamin C, minuman fungsional kolagen, dan kontrol. **Hasil:** Pemberian minuman fungsional kolagen dan komponen bahan baku penyusunnya dapat meningkatkan indeks fagositosis ($p=0,033$). Penambahan vitamin C pada sel makrofag menunjukkan indeks fagositosis yang tertinggi yaitu sebesar $1,94 \pm 0,02$ dan efek yang sama ditemukan pada perlakuan minuman fungsional kolagen ($1,89 \pm 0,26$), diikuti oleh kolagen ($1,39 \pm 0,75$) dan inulin ($1,33 \pm 0,60$). Sementara itu, kapasitas fagositosis antarkelompok perlakuan tidak berbeda signifikan ($p=0,628$), dengan rentang nilai kapasitas fagositosis antara 41-73%. **Simpulan:** Minuman fungsional kolagen berpotensi sebagai produk pangan yang dapat menstimulasi imun yang ditandai dengan indeks fagositosis yang tinggi dibanding kelompok kontrol. Namun, masih diperlukan penelitian selanjutnya secara *in vivo* dan uji klinis untuk mengonfirmasi efek imunostimulatif.

KATA KUNCI: minuman fungsional kolagen; inulin; partikel lateks; kapasitas fagositosis; indeks fagositosis

*Korespondensi: Lily Arsanti Lestari, Departemen Gizi Kesehatan, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Jl. Farmako, Sekip Utara, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia, e-mail: lily_al@ugm.ac.id

Cara sitasi: Situmorang RMTA, Wahyuningsih MSH, Lestari LA. Uji *in vitro* minuman fungsional kolagen dan komponen penyusunnya terhadap indeks dan kapasitas fagositosis makrofag peritoneal mencit BALB/c. Jurnal Gizi Klinik Indonesia. 2025;22(2):88-96. doi: 10.22146/ijcn.116894

PENDAHULUAN

Saat ini, masyarakat tidak hanya melihat makanan untuk memenuhi rasa lapar atau sekadar camilan saat berkumpul, tetapi juga sebagai makanan untuk meningkatkan kualitas kesehatan, yang biasa disebut sebagai makanan fungsional. Menurut Perhimpunan Penggiat Pangan Fungsional dan Nutrasetikal Indonesia (P3FNI), pangan fungsional adalah pangan (segar/olahan) yang bermanfaat untuk meningkatkan fungsi fisiologis tertentu, dan atau mengurangi risiko sakit berdasarkan kajian ilmiah [1]. Makanan fungsional telah dikembangkan dengan berbagai tujuan khusus, salah satunya untuk meningkatkan daya tahan tubuh. Beberapa bahan atau komponen pangan yang dapat memengaruhi kekebalan tubuh antara lain prebiotik dan probiotik, vitamin (A, C, D, E), mineral (Zn, Se, Mg, Fe), asam lemak omega 3, polifenol, asam amino (daging, kolagen, gelatin, dll), dan senyawa fitokimia yang lain misalnya kurkumin. Efek imunostimulatori produk makanan atau minuman fungsional dapat diukur menggunakan salah satu indikator yaitu aktivitas makrofag karena pengujiannya relatif mudah dan murah.

Makrofag adalah salah satu komponen utama dalam sistem kekebalan tubuh alami atau non-spesifik dan berperan besar dalam menginisiasi sel-sel imun yang lain. Makrofag merupakan bentuk aktif dan matang dari sel monosit yang tinggal di sebagian besar jaringan dalam tubuh dan merupakan salah satu komponen utama dalam mendeteksi datangnya patogen dalam jaringan. Makrofag mengeliminasi patogen tersebut dengan cara fagositosis. Selain itu, makrofag juga dapat menginisiasi rangkaian sistem imun dengan cara menginduksi inflamasi, mengaktifkan komponen imun yang lain, dan mengeliminasi sel-sel yang sudah rusak atau mati.

Kolagen merupakan protein yang menjadi komponen serat utama dalam jaringan ikat seperti dermis (lapisan kulit bagian dalam), tendon (urat daging), tulang, tulang rawan, dan gigi [2]. Kolagen memiliki beragam manfaat, salah satunya adalah berperan dalam mekanisme pertahanan tubuh karena memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri yang cukup tinggi. Respons fagositik makrofag terhadap kolagen dipengaruhi oleh karakteristik subtipe intrinsik, dinamika sitoskeleton, latar belakang genetik, dan lingkungan mikro lokal, dengan

keseimbangan sitokin yang menjadi poros pengaturan kunci [3]. Namun, penelitian spesifik mengenai pengaruh kolagen ikan terhadap aktivitas makrofag masih belum banyak dilakukan. Kolagen dari sapi, ikan, dan ubur-ubur telah diketahui dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag [4-6].

Kolagen dapat dikombinasikan dengan prebiotik dalam minuman fungsional untuk mendukung imunitas. Prebiotik membantu menyeimbangkan mikrobiota usus yang berperan penting dalam sistem kekebalan, sementara kolagen menyediakan asam amino yang mendukung perbaikan jaringan dan fungsi barier tubuh sehingga keduanya bekerja sinergis dalam meningkatkan daya tahan tubuh. Prebiotik merupakan komponen makanan tidak tercerna yang memberikan efek kesehatan bagi inang dan secara selektif menstimulasi pertumbuhan dan atau aktivitas satu atau beberapa bakteri tertentu pada kolon sehingga meningkatkan kesehatan inang [7]. Contoh prebiotik adalah inulin, fruktooligosakarida (FOS), galaktooligosakarida (GOS), dan laktulosa. Pemberian prebiotik berupa laktulosa juga dapat meningkatkan sekresi IgA di dalam *gut-associated lymphoid tissue* (GALT) serta meningkatkan fungsi fagositik dari makrofag intraperitoneal [8,9]. Inulin diketahui dapat meningkatkan aktivitas makrofag in vitro dan in vivo [10]. Dalam penelitian ini, prebiotik inulin juga merupakan salah satu komponen pada minuman fungsional kolagen sehingga perlu diuji lebih lanjut kemampuannya dalam meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag.

Lebih lanjut, vitamin C dapat meningkatkan proliferasi makrofag dan aktivitas fagositik, terutama dalam kondisi stres seperti paparan kromium. Vitamin C juga mengurangi pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) dan apoptosis pada makrofag sehingga melindungi makrofag dari stres oksidatif. Vitamin C bertindak sebagai antioksidan kuat, mengurangi stres oksidatif pada makrofag dengan mengurangi ROS dan kerusakan asam deoksiribonukleat (DNA). Hal ini membantu menjaga integritas sel dan mencegah aktivasi imun yang berlebihan [11]. Kekurangan vitamin C menyebabkan gangguan kekebalan dan peningkatan kerentanan terhadap infeksi [12]. Pengaruh vitamin C pada aktivitas makrofag perlu diamati pada penelitian ini karena merupakan salah satu

komponen pada produk minuman fungsional yang diduga memiliki efek imunostimulator.

Kombinasi kolagen, prebiotik, dan vitamin C dalam suatu formula minuman fungsional kolagen belum banyak diteliti efeknya terhadap imunitas. Tahap penelitian *in vitro* ini diperlukan sebagai landasan penelitian selanjutnya untuk mengetahui apakah minuman fungsional kolagen dapat meningkatkan aktivitas makrofag peritoneal *in vitro*. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui indeks dan kapasitas fagositosis pada makrofag peritoneal mencit BALB/c setelah penambahan minuman fungsional kolagen dan komponen penyusunnya yang berupa kolagen, inulin, dan vitamin C. Mencit merupakan model hewan coba yang paling cocok untuk pengujian imunitas karena memiliki sistem imun yang relatif mirip dengan manusia, mudah dikontrol secara genetik dan lingkungan, serta telah banyak digunakan dalam penelitian sehingga data yang dihasilkan lebih konsisten dan dapat dibandingkan.

BAHAN DAN METODE

Desain dan subjek

Penelitian pengujian aktivitas makrofag *in vitro* merupakan eksperimen murni pada laboratorium menggunakan *study in vitro (experimental laboratory in vitro)* dengan desain eksperimen sederhana (*post-test only control group design*). Penelitian ini menggunakan empat kelompok perlakuan yaitu penambahan kolagen, vitamin C, prebiotik inulin, dan minuman fungsional kolagen dengan kelompok kontrol berupa pelarut dan media. Minuman fungsional kolagen terdiri dari inulin, maltodekstrin, kolagen, sukrosa, vitamin C (asam askorbat), perisa buah, sukralosa, asam sitrat, dan trikalsiumfosfat.

Bahan yang digunakan adalah isolat sel makrofag peritoneal *Mus musculus* strain BALB/c usia 2 bulan, serbuk kolagen (Naticol BPMG), asam askorbat (Shandong Luwei Pharmaceutical), serbuk Inulin (BENEO Orafiti), serbuk minuman fungsional kolagen (diformulasi sendiri), dimetilsulfoksida (DMSO) (Sigma, PT. Merck Chemicals and Life Sciences – MCLS), *latex polystyrene beads* (Sigma MCLS), Phosphate Buffer Saline (PBS), pewarna giemsa, etanol 70%, dan

media kultur RPMI-1640 yang mengandung NaHCO_3 , L-Glutamine, *phenol red*, HEPES (Sigma MCLS), dan FBS 10% (Fetal Bovine Serum) (Sigma MCLS). Bahan tambahan untuk membuat minuman fungsional kolagen seperti maltodekstrin, sukrosa, perisa buah, sukralosa, asam sitrat, dan trikalsiumfosfat diperoleh dari toko lokal. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah haemositometer (Marienfeld), mikropipet (Bio-Rad; Gilson), *microplate 24-wells flat bottom* (Iwaki), mikroskop (Olympus), *incubator with air jacket* (Biobase), timbangan analitik (KERN ABJ-NM/ABS), sentrifus (Sorvall® Biofuge primo R), gunting bedah, pinset, tabung *conical* (Falcon), rak tabung, beaker glass, cover glass, sarung tangan latex (Sensi), masker, penutup kepala, kertas label, dan tisu.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada pada bulan Oktober 2021. Sampel penelitian yang digunakan adalah sel makrofag peritoneal diperoleh dari rongga perut mencit (*Mus musculus*) jantan galur BALB/c yang dipilih sesuai kriteria inklusi yaitu: mencit (*Mus musculus*) jantan galur BALB/c; umur 6-8 minggu; berat 20-30 gram dan; sehat dengan kriteria struktur anatomi normal, gerakan lincah dan aktif serta tidak agresif, kulit dan bulu halus tanpa luka, dan mata terang. Jumlah mencit yang diisolasi makrofagnya adalah 3 ekor mencit. Besar sampel uji makrofag adalah sebesar $2,5 \times 10^5$ sel/sumuran untuk setiap perlakuan dan menggunakan mikroplat 24 sumuran. Total terdapat 10 sumuran yang terdiri dari empat jenis sampel (kolagen, inulin, vitamin C, dan minuman fungsional kolagen) dan kelompok kontrol media dengan masing-masing dua kali pengulangan. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada dengan nomer KE/0612/05/2021.

Pengumpulan dan pengukuran data

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis pemberian pada sampel berupa kolagen ikan, vitamin C, inulin, dan produk minuman fungsional kolagen. Sementara variabel terikat adalah aktivitas fagositosis dari makrofag peritoneal mencit BALB/c.

Prosedur isolasi makrofag. Sebanyak 3 ekor mencit dikorbankan dengan memasukkan mencit ke dalam wadah yang di dalamnya sudah diisi kapas yang dibasahi dengan eter. Setelah mencit tidak sadar kemudian dikorbankan dengan cara *cervical dislocation*. Isolasi makrofag peritoneum dilakukan dengan menyuntikkan 10 ml cairan RPMI komplit dingin secara intraperitoneum, ditunggu 3 – 5 menit. Cairan diaspirasi dengan menggunakan spuit injeksi, diupayakan mencit dalam posisi miring sehingga pengambilan cairan lebih mudah dilakukan. Aspirat dalam spuit disimpan pada suhu 4-10 °C untuk selanjutnya dilakukan uji aktivitas makrofag pada keesokan harinya. Penyimpanan sementara ini bertujuan memastikan bahwa makrofag berada dalam kondisi optimal, aktif, dan representatif sehingga hasil pengujian aktivitas fagositosis menjadi lebih akurat.

Prosedur pengujian aktivitas makrofag. Metode pengujian aktivitas fagositosis makrofag mengacu pada metode Handayani *et al.* [13]. Aspirat dipindahkan ke dalam tabung sentrifus dan disentrifus pada 1.500 rpm, 4 °C, selama 10 menit. Supernatan dibuang dan tambahkan 3 ml medium RPMI pada endapan sel. Makrofag yang diisolasi dari mencit dijadikan satu dalam tabung konikal kemudian jumlah sel dihitung dengan menggunakan hemositometer, diresuspensi hingga didapatkan kepadatan $2,5 \times 10^5$ sel/sumuran (diperkirakan dalam 50 μ l suspensi sel makrofag terdapat $2,5 \times 10^5$ sel), kemudian sel makrofag dikultur selama 24 jam, media diambil dengan pipet dan dicuci sebanyak dua kali. Masing-masing sampel dengan konsentrasi 100 μ g/ml (satu level dosis) ditambahkan sebanyak satu ml pada setiap mikroplat dengan dua kali pengulangan. Inkubasi selama empat jam di dalam inkubator CO₂ dengan suhu 37 °C. Partikel lateks berdiameter 3 μ m disuspensikan dalam PBS hingga konsentrasinya $2,5 \times 10^7$ lateks/ml. Suspensi lateks sebanyak 200 μ l ditambahkan dalam sumuran dan diinkubasi selama 20 menit pada suhu 37 °C pada inkubator CO₂ 5% untuk memberi kesempatan makrofag berinteraksi dengan partikel lateks. *Coverslip* dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali untuk menghilangkan partikel yang tak terfagositosis dan dikeringkan pada suhu ruang. *Coverslip* difiksasi dengan metanol absolut selama 30 detik untuk membuka membran makrofag, methanol dibuang dan *coverslip* dikeringkan pada

suhu ruang, setelah itu ditetesi cat giemsa 20% hingga *coverslip* terendam selama 30 menit, dicuci dengan akuades, dan dikeringkan pada suhu ruang. Preparat diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x. Persentase fagositosis dihitung per ± 100 makrofag dan jumlah rata-rata lateks yang difagosit per ± 100 makrofag. Indeks fagositosis (IF) merupakan jumlah partikel lateks yang terfagositosis dibagi jumlah sel makrofag yang aktif memfagositosis. Sementara kapasitas fagositosis (KF) adalah jumlah makrofag yang memfagositosis dibagi jumlah makrofag yang terhitung [14].

$$\text{Kapasitas Fagositosis (KF)} = \frac{\text{Jumlah makrofag yang memfagositosis}}{\text{Jumlah makrofag yang terhitung}} \times 100\%$$

$$\text{Kapasitas Fagositosis (KF)} = \frac{\text{Jumlah makrofag yang memfagositosis}}{\text{Jumlah makrofag yang terhitung}} \times 100\%$$

Analisis data

Data dianalisis secara univariat dan bivariat. Analisis univariat ditujukan untuk mengetahui rata-rata hitung (*mean*) dan simpangan baku (*standard deviation/SD*) dari data indeks fagositosis makrofag dan kapasitas fagositosis makrofag pada setiap kelompok perlakuan. Analisis bivariat dilakukan untuk mengetahui perbedaan rata-rata indeks fagositosis dan kapasitas fagositosis makrofag setelah pemberian berbagai sampel uji. Sebelum dilakukan analisis secara bivariat, data diuji normalitas dan homogenitas dengan Kolmogorov-Smirnov. Data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen ($p \geq 0,05$), maka selanjutnya data dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA* melalui program SPSS versi 26. Analisis *post hoc One Way ANOVA* dilakukan dengan menggunakan Uji Duncan bila ditemukan perbedaan signifikan pada uji *One Way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 95% dan tingkat signifikansi (tingkat kesalahan) 5% ($\alpha = 0,05$).

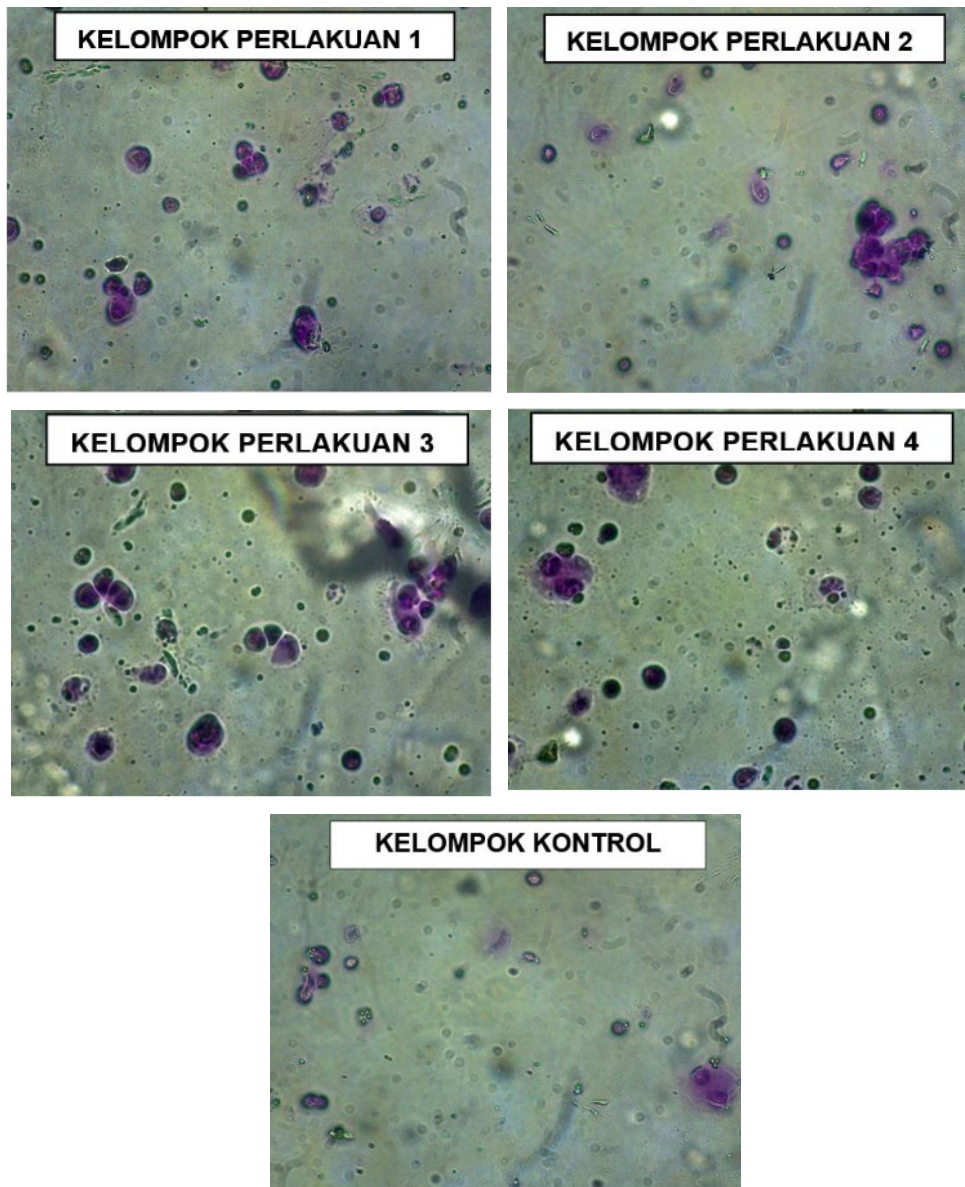
HASIL

Hasil pengamatan mikroskopis pada makrofag peritoneum mencit setelah diberi perlakuan sampel kolagen, vitamin C, prebiotik inulin, dan minuman fungsional kolagen dapat dilihat pada **Gambar 1**. Jika dibandingkan kontrol, makrofag yang telah diberi perlakuan kolagen, vitamin C, prebiotik inulin, serta

Tabel 1. Indeks fagositosis makrofag

Jenis sampel	Jumlah partikel lateks yang terfagosit	Jumlah makrofag aktif	Indeks fagositosis
Kolagen	145,00 ± 12,73	104,50 ± 3,54	1,39 ± 0,75 ^{ab}
Inulin	149,50 ± 3,54	112,50 ± 7,78	1,33 ± 0,60 ^{ab}
Vitamin C	204,00 ± 21,21	107,00 ± 7,07	1,94 ± 0,02 ^b
Minuman fungsional kolagen	203,50 ± 28,99	104,00 ± 4,24	1,89 ± 0,26 ^b
Kontrol	86,50 ± 61,52	106,00 ± 8,49	0,80 ± 0,52 ^a

Keterangan: superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan. Nilai p indeks fagositosis antar kelompok yaitu 0,033



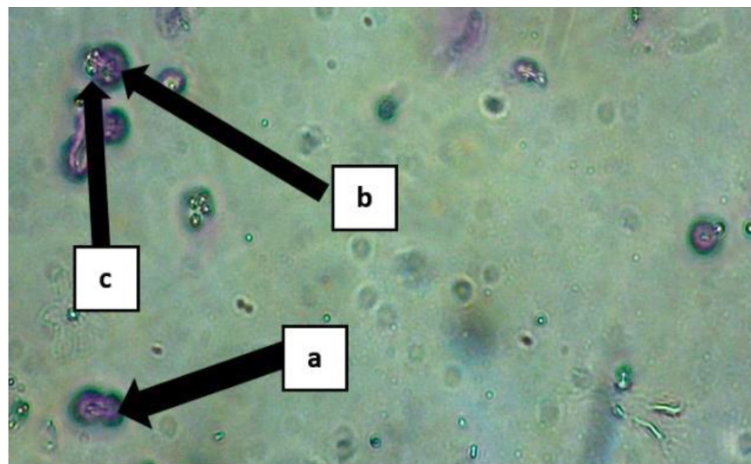
Gambar 1. Perbandingan hasil mikroskopis uji aktivitas fagositosis makrofag masing-masing kelompok perlakuan dengan perbesaran 100x

Keterangan: kelompok perlakuan 1 (kolagen); kelompok perlakuan 2 (inulin); kelompok perlakuan 3 (vitamin C); kelompok perlakuan 4 (minuman fungsional kolagen)

Tabel 2. Kapasitas fagositosis makrofag

Jenis sampel	Makrofag terhitung	Kapasitas fagositosis (%)
Kolagen	162,50 ± 45,96	67 ± 21
Inulin	215,00 ± 123,04	61 ± 31
Vitamin C	182,00 ± 84,85	65 ± 26
Minuman fungsional kolagen	143,00 ± 11,31	73 ± 3
Kontrol	258,50 ± 37,48	41 ± 3

Keterangan: Nilai p kapasitas fagositosis antar kelompok yaitu 0,628



Gambar 2. Makrofag peritoneal dengan pengecatan Giemsa

Keterangan: (a) Sel makrofag yang tidak aktif memfagositosis, (b) sel makrofag yang aktif memfagositosis, (c) partikel lateks yang terfagositosis

minuman fungsional kolagen terlihat lebih aktif dalam memfagositosis partikel lateks. Partikel lateks dapat dilihat pada **Gambar 2c** dengan warna putih dan berbentuk lingkaran. Sel makrofag yang tidak aktif melakukan fagositosis ditunjukkan pada **Gambar 2a** dan tidak terdapat partikel lateks di dalamnya. Sebaliknya, makrofag yang aktif melakukan fagositosis ditunjukkan oleh **Gambar 2b** dan terdapat partikel lateks di dalamnya.

Tabel 1 menunjukkan bahwa sampel vitamin C memiliki nilai partikel lateks terfagositosis paling tinggi dibanding jenis sampel yang lain sedangkan kelompok kontrol memiliki nilai yang terendah. Inulin memiliki jumlah makrofag aktif yang memfagositosis paling tinggi dibanding jenis sampel yang lain sedangkan minuman fungsional kolagen merupakan jenis sampel yang memiliki nilai terendah. Tabel 1 juga menunjukkan nilai indeks fagositosis pada masing-masing kelompok perlakuan dengan nilai indeks fagositosis vitamin C adalah $1,94 \pm 0,02$, diikuti minuman fungsional kolagen

($1,89 \pm 0,26$), kolagen ($1,39 \pm 0,75$), inulin ($1,33 \pm 0,60$), dan kontrol ($0,80 \pm 0,52$). Berdasarkan uji analisis variasi satu arah (*One Way ANOVA*), diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,033 ($p < 0,05$) yang Selanjutnya, dilakukan uji lanjut menggunakan uji Duncan pada taraf signifikansi 0,05 untuk mengetahui perbedaan bermakna antarkelompok perlakuan. Hasilnya menunjukkan bahwa kelompok perlakuan dengan penambahan minuman fungsional kolagen berbeda signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Vitamin C dan minuman fungsional kolagen menunjukkan indeks fagositosis yang tidak berbeda signifikan, diikuti oleh kolagen dan inulin.

Hasil perhitungan kapasitas fagositosis makrofag pada **Tabel 2** menunjukkan nilai makrofag terhitung dan kapasitas fagositosis pada masing-masing kelompok perlakuan. Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa kapasitas fagositosis antar perlakuan tidak berbeda signifikan dengan nilai $p=0,628$.

BAHASAN

Seluruh kelompok perlakuan dengan pemberian sampel memiliki nilai rerata indeks fagositosis lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p=0,033$). Pemberian vitamin C menunjukkan indeks fagositosis paling tinggi, tetapi tidak berbeda signifikan jika dibandingkan dengan minuman fungsional kolagen. Kelompok kontrol merupakan kelompok perlakuan dengan nilai rerata indeks fagositosis terendah. Walaupun begitu, masih terdapat beberapa makrofag yang aktif memfagositosis lateks. Hal ini membuktikan adanya respon imun alami oleh makrofag walaupun tanpa diberikan sampel, respon ini muncul akibat paparan partikel lateks dianggap sebagai antigen yang masuk ke dalam tubuh. Respon imun bawaan ini muncul secara alami dan bekerja untuk melindungi tubuh dari serangan patogen [15]. Sementara itu, kapasitas fagositosis dari seluruh kelompok perlakuan tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p=0,628$).

Secara biologis, peningkatan indeks fagositosis pada seluruh kelompok perlakuan menunjukkan bahwa pemberian sampel mampu mengaktifasi fungsi internal sel makrofag, khususnya dalam meningkatkan kemampuan pengenalan (*recognition*) dan fagositosis partikel asing. Hal ini mengindikasikan adanya peningkatan aktivitas reseptor permukaan seperti *pattern recognition receptors* (PRRs), yang berperan dalam mendeteksi antigen, serta aktivasi jalur transduksi sinyal intraseluler yang memicu proses fagositosis. Makrofag menggunakan berbagai reseptor untuk mengenali dan mengikat partikel. Untuk partikel lateks, reseptor $Fc\gamma$ dan reseptor komplemen memainkan peran penting dalam proses fagositosis. Pengikatan reseptor-reseptor ini ke partikel lateks merupakan awal dari rangkaian sinyal yang mengarah pada proses fagositosis [16].

Pemberian vitamin C pada makrofag secara langsung melalui metode *in vitro* dapat meningkatkan daya mobilitas dan aktivitas fagositosis dengan beberapa mekanisme, diantaranya berperan sebagai antioksidan atau donor elektron, meningkatkan motilitas atau kemotaksis, generasi ROS, serta pembunuhan mikroba patogen [17]. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menemukan peningkatan aktivitas fagositosis mencit yang diberi perlakuan vitamin C [18].

Indeks fagositosis pada kelompok perlakuan inulin memiliki nilai lebih besar dibanding kelompok kontrol, hal ini menandakan inulin juga berpengaruh terhadap aktivitas makrofag peritoneal mencit BALB/c. Hal ini sejalan dengan penelitian lain [19] yang menunjukkan bahwa prebiotik inulin dianggap dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Makrofag dapat mengenali struktur berulang monosakarida pada polisakarida dan oligosakarida sehingga dapat memacu respon imun dengan peningkatan aktivitas fagositosis makrofag [20]. Inulin, merupakan fruktan, dapat berperan sebagai antioksidan yang mampu menstimulasi spesies oksigen reaktif (ROS) [21].

Perlakuan kolagen menunjukkan nilai indeks fagositosis yang lebih tinggi dari kelompok kontrol. Studi terdahulu [22] melaporkan bahwa indeks fagositosis oleh sel makrofag pada hati mencit secara *in vitro* dengan pemberian kolagen tipe 1 (kolagen pada ikan), lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Penelitian lain [23] juga menunjukkan bahwa pemberian kolagen tipe-1 dapat meningkatkan *Matrix Metalloproteinase-9* (MMP) yang dihasilkan oleh makrofag. MMP-9 merupakan enzim proteolitik yang berfungsi dalam adhesi pada rangkaian proses fagositosis yang dilakukan oleh makrofag. MMP-9 akan memecah elastin (protein struktural fibrosa) sehingga mengubah interaksi atau adesi sel dengan matriks ekstrasel dan adesi antarsel. Pada penelitian yang sama juga menghasilkan kesimpulan bahwa pemberian kolagen tipe-1 pada monosit secara *in vitro* terbukti meningkatkan jumlah monosit yang berdiferensiasi menjadi makrofag [23]. Sebuah studi tentang *collagen-like peptide* yang menargetkan reseptor LAIR-1 pada makrofag menunjukkan peningkatan fagositosis partikel dan sel apoptosis oleh makrofag. Hal ini menunjukkan bahwa peptida dari kolagen dapat meningkatkan aktivitas fagositik makrofag melalui mekanisme yang dimediasi reseptor [24].

Penelitian ini memiliki berbagai keterbatasan antara lain penggunaan satu tingkat dosis atau konsentrasi, tidak dilakukannya pengukuran parameter imun lain seperti sitokin, *reactive oxygen species* (ROS), atau *nitric oxide* (NO), serta jumlah ulangan yang terbatas. Selain itu, penelitian ini masih terbatas pada model *in vitro* sehingga belum sepenuhnya mencerminkan kondisi fisiologis *in vivo*. Keterbatasan tersebut dapat

mempengaruhi interpretasi hasil, khususnya dalam memahami mekanisme imunomodulator secara lebih komprehensif. Oleh karena itu penelitian selanjutnya perlu dilakukan dengan variasi dosis, jumlah ulangan yang lebih memadai, serta pengukuran parameter imun tambahan dan pendekatan *in vivo* untuk memperoleh gambaran efek yang lebih menyeluruh.

SIMPULAN DAN SARAN

Minuman fungsional kolagen dan bahan penyusunnya yaitu kolagen, inulin, serta vitamin C berpotensi memodulasi aktivitas fagositik makrofag yang ditandai dengan indeks fagositosis yang tinggi dibanding kelompok kontrol. Penelitian lebih lanjut masih diperlukan untuk mengonfirmasi efek imunostimulator. Modifikasi konsentrasi minuman fungsional kolagen juga perlu diteliti untuk melihat apakah efeknya tergantung dosis atau tidak. Penelitian *in vivo* dan uji klinis penting untuk dilakukan sebelum produk dapat dikomersialisasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada, Indonesia yang telah memberikan dukungan pendanaan penelitian melalui skema Hibah Penelitian Dosen–Mahasiswa S1 Dana Masyarakat tahun anggaran 2021.

Pernyataan konflik kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

RUJUKAN

1. Perhimpunan Penggiat Pangan Fungsional dan Nutrasetikal Indonesia (P3FNI). Definisi pangan fungsional. [series online] 2025 [cited 2025 April 1]. Available from: URL: <https://p3fni.org/>
2. Manon-Jensen T, Kjeld NG, Karsdal MA. Collagen-mediated hemostasis. *J Thromb Haemost*. 2016;14(3):438-48. doi: 10.1111/jth.13249
3. Barger SR, Gauthier NC, Krendel M. Squeezing in a meal: myosin functions in phagocytosis. *Trends Cell Biol*. 2020;30(2):157-67. doi: 10.1016/j.tcb.2019.11.002
4. Putra ABN, Morishige H, Nishimoto S, Nishi K, Shiraishi R, Sugahara T, et al. Effect of collagens from jellyfish and bovine Achilles tendon on the activity of J774.1 and mouse peritoneal macrophage cells. *Journal of Functional Foods*. 2012;4(2):504-12. doi: 10.1016/j.jff.2012.02.011
5. Castillo-Briceño P, Sepulcre MP, Chaves-Pozo E, Meseguer J, García-Ayala A, Mulero V. Collagen regulates the activation of professional phagocytes of the teleost fish gilthead seabream. *Mol Immunol*. 2009;46(7):1409-15. doi: 10.1016/j.molimm.2008.12.005
6. Putra AB, Nishi K, Shiraishi R, Doi M, Sugahara T. Jellyfish collagen stimulates production of TNF- α and IL-6 by J774.1 cells through activation of NF- κ B and JNK via TLR4 signaling pathway. *Mol Immunol*. 2014;58(1):32-7. doi: 10.1016/j.molimm.2013.11.003
7. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*. 1995;125(6):1401-12. doi: 10.1093/jn/125.6.1401
8. Siddiqui MT, Cresci GAM. The immunomodulatory functions of butyrate. *J Inflamm Res*. 2021;14:6025-41. doi: 10.2147/JIR.S300989
9. Mukherjee R, Van De Kaa M, Garssen J, Pieters RJ, Kraneveld AD, Willemsen LEM. Lactulose synergizes with CpG-ODN to modulate epithelial and immune cells cross talk. *Food Func*. 2019;10(1):33-7. doi: 10.1039/C8FO02376J
10. Nagahara Y, Nagamori T, Tamegai H, Hitokuwada M, Yoshimi Y, Ikekita M, Shinomiya T. Inulin stimulates phagocytosis of PMA-treated THP-1 macrophages by involvement of PI3-kinases and MAP kinases. *Biofactors*. 2011;37(6):447-54. doi: 10.1002/biof.186
11. Vandana S, Ram S, Ilavazhagan M, Kumar GD, Banerjee PK. Comparative cytoprotective activity of vitamin C, E and beta-carotene against chromium induced oxidative stress in murine macrophages. *Biomed Pharmacother*. 2006;60(2):71-6. doi: 10.1016/j.biopha.2005.04.005
12. Selvamary VN, Brundha MP, Smiline Girija AS. Role of vitamin C in immune function of human body. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*. 2020;14(4):5093-9. doi: 10.37506/ijfimt.v14i4.1242
13. Handayani N, Wahyuono S, Hertiani T, Murwanti R. Uji aktivitas fagositosis makrofag ekstrak etanol daun suji (*Dracaena angustifolia* (Medik.) Roxb.) secara in vitro. *Pharmacy Medical Journal*. 2018;1(1):26-32.
14. Jensch-Junior BE, Pressinotil N, Borges JCS, Silva CD. Characterization of macrophage phagocytosis of the tropical fish *Prochilodus srofa*. *Aquaculture*. 2006;251(2-4):509-15. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.05.042
15. Coico R, Sunshine G. *Immunobiology: a short course*. 6th edition. United States: John Wiley & Sons Inc; 2009.

16. Hoffmann E, Marion S, Mishra BB, John M, Kratzke R, Kuznetsov SA, et al. Initial receptor-ligand interactions modulate gene expression and phagosomal properties during both early and late stages of phagocytosis. *Eur J Cell Biol.* 2010;89(9):693-704. doi: 10.1016/j.ejcb.2010.04.006
17. Carr AC, Maggini S. Vitamin C and immune function. *Nutrients.* 2017;9(11):1211. doi: 10.3390/nu9111211
18. Widjaja H, Riwanto I, Dharmana E. Pengaruh pemberian vitamin C terhadap aktivitas fagositosis makrofag dan kadar vitamin C dalam cairan intraperitoneal mencit Balb/C dengan sepsis. *Medica Hospitalia.* 2012;1(2):12-6.
19. Gaskins HR, Mackie RI, May T, Garleb KA. Dietary fructo-oligosaccharide modulates large intestinal inflammatory responses to *Clostridium difficile* in antibiotic-compromised mice. *Microbial Ecology in Health and Disease.* 1996;9(4):157-66. doi: 10.3109/08910609609166456
20. Lestari LA, Soesatyo MHNE, Iravati S, Harmayani E. Peningkatan aktivitas fagositosis dan produksi nitrit oksida pada makrofag peritoneum tikus Sprague Dawley yang diberi *Lactobacillus plantarum* Mut7 dan ekstrak serat ubi jalar. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia.* 2012;9(2):64-72. doi: 10.22146/ijcn.15381
21. Peshev D, Van den Ende, W. Fructans: Prebiotics and immunomodulators. *Journal of Functional Foods.* 2014;8:348-57. doi: 10.1016/j.jff.2014.04.005
22. Lu L, Woo J, Rao AS, Li Y, Watkins SC, Thomson AW, et al. Propagation of dendritic cell progenitors from normal mouse liver using granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and their maturational development in the presence of type-1 collagen. *J Exp Med.* 1994;179(6):1823-34. doi: 10.1084/jem.179.6.1823
23. Wesley RB 2nd, Meng X, Godin D, Galis ZS. Extracellular matrix modulates macrophage functions characteristic to atheroma: Collagen type I enhances acquisition of resident macrophage traits by human peripheral blood monocytes in vitro. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18(3):432-40. doi: 10.1161/01.atv.18.3.432
24. Rowley AT, Meli VS, Wu-Woods NJ, Chen EY, Liu WF, Wang SW. Effects of surface-bound collagen-mimetic peptides on macrophage uptake and immunomodulation. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;3(8):747. doi: 10.3389/fbioe.2020.00747