

**EFEK IMUNOSTIMULAN FRAKSI DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* L. MERR.)
TERHADAP AKTIVITAS DAN KAPASITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG PADA MENCIT
JANTAN (*MUS MUSCULUS*)**

Afrisusnawati Rauf, Haeria, Dina Dhaifina Anas

Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar

ABSTRAK

Salah satu herbal yang digunakan sebagai imunostimulan adalah daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr.). Salah satu kandungan kimia dalam daun katuk yaitu flavanoid yang dapat meningkatkan kerja sistem imun (imunostimulan). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah pada pemberian fraksi daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr.) memiliki efek imunostimulan pada mencit (*Mus musculus*) jantan terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag. Pada penelitian ini digunakan lima belas ekor mencit dibagi ke dalam lima kelompok dan diaklimatisasi selama tujuh hari sebelum perlakuan. Kelompok pertama diberikan *Imboost force*[®] sebagai kontrol positif, kelompok kedua diberikan Na-CMC 1% sebagai kontrol negatif dan kelompok ketiga diberikan fraksi 0,5%, kelompok keempat diberikan fraksi 1% dan kelompok kelima diberikan fraksi 2%. Selanjutnya masing-masing konsentrasi diinduksikan ke mencit selama tujuh hari dan pada hari ke delapan diinduksikan bakteri *Staphylococcus aureus* pada peritoneum mencit, lalu dibedah dan diambil cairan peritoneum dan diamati di bawah mikroskop menggunakan hemositometer. Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa fraksi daun katuk dapat memberikan efek sebagai imunostimulan pada konsentrasi yang paling berpengaruh yaitu 2% yang tidak berbeda nyata (< LSD 0,05 dan 0,01).

Kata Kunci : *Sauropus androgynus* L. Merr., imunostimulan, fagositosis, sel makrofag, *Mus musculus*.

PENDAHULUAN

Salah satu herbal yang digunakan sebagai imunostimulan adalah *Sauropus androgynous* L. Merr. atau lebih dikenal dengan daun katuk. Salah satu bagian dari katuk bermanfaat sebagai pengobatan yaitu daunnya untuk mengobati demam, suara parau, dan pelancar ASI dan dapat meningkatkan respon sistem imun non-spesifik (Prapti Utami, 2008: 117).

Daun katuk memiliki kandungan kimia antara lain flavanoid, tanin, alkaloid, triterpen, asam-asam organik, minyak atsiri, asam-asam amino, protein, mineral

dan karbohidrat (Malik, 1997). Kandungan flavanoid dalam daun katuk akan meningkatkan sistem imun (Prapti Utami, 2008: 117).

Quercetin dan *kampherol* merupakan senyawa flavonol turunan dari flavanoid yang berperan dalam peningkatan sistem imun, yaitu dengan cara meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Sel CD⁴⁺ akan mempengaruhi proliferasi limfosit kemudian menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Sel Th1 yang teraktivasi akan mempengaruhi SMAF, yaitu molekul

molekul termasuk IFN- γ yang dapat mengaktifkan makrofag. Aktivasi makrofag dapat dilihat salah satunya dengan meningkatnya produk *nitric oxide*.

Sistem imun terdiri atas semua sel, jaringan dan organ yang diperlukan untuk respons imun. Fungsi sistem imun adalah melindungi tubuh dari patogen dan menghancurkan sel-sel yang sudah tidak dikenali sebagai sel tubuh sendiri (James, 2008: 124).

Imunostimulan adalah bahan yang dapat merangsang sistem imun tubuh melalui mekanisme respon imun non spesifik dan melalui respon imun spesifik (Schulz V, 2004).

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh daun katuk terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag serta pada konsentrasi berapa fraksi daun katuk lebih berpotensi sebagai imunostimulan.

METODE KERJA

1. Ekstraksi dan fraksinasi sampel

Simplisia daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) ditimbang sebanyak 200 g lalu dimasukkan ke dalam wadah maserasi, direndam dengan n-heksan hingga seluruh simplisia terbasahi dan ditutup rapat. Dibiarkan selama 24 jam sambil diaduk sekali-kali. Disaring dan dipisahkan ampas dan filtratnya. Selanjutnya ampas dimaserasi kembali dengan menggunakan cairan penyari n-heksan yang baru. Hal ini dilakukan selama 3 kali berturut-turut. Ekstrak n-

heksan yang diperoleh dipekatkan dengan alat evaporator. Kemudian dimasukkan kembali ke dalam alat maserasi lalu ekstraksi dengan pelarut metanol. Kemudian disaring dan dipisahkan ampas dan filtratnya, lalu ampas dimaserasi kembali dengan menggunakan metanol yang baru. Hal ini dilakukan selama 3 kali berturut-turut. Ekstrak metanol yang diperoleh dipekatkan dengan alat evaporator.

Selanjutnya dilakukan fraksinasi komponen kimia dengan tahap :

a. Pemisahan Komponen Kimia

Ditimbang ekstrak sebanyak 3 gram kemudian ditimbang silika gel 20 gram. Dilarutkan ekstrak dengan pelarut yang sesuai secukupnya, lalu ditambahkan sedikit demi sedikit silika gel hingga kering seperti serbuk. Dimasukkan silika gel dan ekstrak ke dalam sinter glass Kromatografi Cair Vakum dan dimampatkan dengan pompa vakum kemudian dielusi dengan eluen yang pertama kali digunakan. Cairan pengelusi dibuat dengan gradien kepolaran yang meningkat berdasarkan profil KLT. Fraksi-fraksi yang diperoleh diuapkan kemudian dilihat profil KLT-nya. Fraksi yang memiliki kromatogram dan warna bercak yang sama digabung menjadi satu.

b. Identifikasi Senyawa Bioaktif

Fraksi ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dielusi dengan eluen yang sesuai dengan profil KLT yang diperoleh, diamatai kromatogramnya kemudian

disemprot dengan menggunakan pereaksi penampak noda sebagai berikut:

- 1) Pereaksi H_2SO_4 10%: kromatogram dipanaskan pada $105^\circ C$ selama 5 menit dan diamati akan menghasilkan warna kuning, coklat, hitam untuk kandungan senyawa organik.
- 2) Pereaksi Dragendorff: akan dihasilkan warna jingga dengan latar belakang kuning untuk senyawa golongan alkaloida.
- 3) Pereaksi $FeCl_3$ 5%: akan dihasilkan warna hitam-biru atau hijau untuk senyawa golongan fenol.
- 4) Pereaksi Liebermann-Burchard: kromatogram terlebih dahulu dipanaskan, kemudian diamati di lampu UV 366 nm. Munculnya noda berfluoresensi merah menunjukkan adanya triterpen, sedangkan munculnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.
- 5) Pereaksi $AlCl_3$ 5%: diamati di lampu UV, akan dihasilkan noda berfluoresensi kuning untuk senyawa golongan flavonoid.
- 6) Pereaksi $FeCl_3$: akan dihasilkan warna biru-hitam untuk tanin katekol dan warna hijau-hitam untuk tanin pirogalol.

2. Uji imunostimulan

a. Aklimatisasi hewan coba

Sebelum digunakan sebagai hewan percobaan, semua mencit terlebih

dahulu diadaptasikan (aklimatisasi) terhadap lingkungan selama ± 7 hari untuk kontrol kondisi kesehatannya. Hewan coba hanya diberi makan dan minum setiap hari.

b. Sterilisasi peralatan

Alat-alat yang digunakan pada proses uji imunostimulan seperti cawan petri, tabung reaksi kosong, batang pengaduk kaca disterilkan dalam oven pada suhu $160^\circ C$ selama ± 2 jam. Bahan yang digunakan seperti medium disterilkan dalam autoklaf pada suhu $121^\circ C$ selama 15 menit, sedangkan ruangan yang akan digunakan dipastikan dalam keadaan steril, nyalakan lampu UV pada laminar air flow ± 2 jam sebelum digunakan.

c. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditanam pada media agar nutrient miring disuspensikan dalam larutan pepton water, kemudian dilakukan penentuan jumlah bakteri secara spektrofotometrik ($\lambda = 580$ nm, transmitansi 25%) dan didapat jumlah bakteri setara dengan 10^9 sel/ml.

d. Penyiapan sampel uji

Semua kelompok hewan coba dikelompokkan secara acak dengan dibagi lima kelompok dan masing-masing kelompok terdiri atas lima ekor mencit. Semua pemberian dilakukan peroral setiap hari selama satu minggu.

Kelompok I : kontrol positif, mencit diberikan imboost force® 0,975mg/kg BB

Kelompok II : kontrol negatif, mencit diberikan Na-CMC 1%

Kelompok III : mencit diberikan fraksi daun katuk dengan konsentrasi 0,5%/kg BB

Kelompok IV : mencit diberikan fraksi daun katuk dengan konsentrasi 1 %/kg BB

Kelompok V : mencit diberikan fraksi daun katuk dengan konsentrasi 2%/kg BB

e. Uji fagositosis

Pada hari kedelapan, setiap mencit diinfeksi intraperitoneal dengan 0,5 ml suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan dibiarkan selama satu jam. Mencit dieuthanasi dengan eter lalu dibedah perutnya dengan menggunakan gunting bedah dan pinset steril. Cairan peritoneum diambil dengan menggunakan spuit. Cairan peritoneal dipulas pada glass obyek dan difiksasi dengan metanol selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan pewarna Giemsa 4%, didiamkan 20 menit, dibilas dengan air mengalir. Setelah sediaan kering, diamati di bawah mikroskop menggunakan minyak imersi dengan perbesaran 10x-100x, dihitung aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag.

f. Penetapan nilai aktivitas dan kapasitas fagositosis (Dey, 1991, Wagner, 1999)

Nilai aktivitas fagositosis

% Aktivitas

$$= \frac{\text{Jumlah makrofag aktif}}{\text{Jumlah makrofag keseluruhan}} \times 100\%$$

Nilai kapasitas fagositosis

$$\text{Kapasitas} = \frac{\text{Jumlah bakteri uji}}{\text{Jumlah sel makrofag aktif}}$$

3. Teknik Pengolahan dan Analisis Data

Untuk mengetahui efektivitas imunostimulan fraksi daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr.) melalui pengukuran aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag peritoneum mencit yang diinduksi *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* digunakan analisa RAL.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Ekstraksi Sampel

Ekstrak Heksan daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr.) = 8,6 gram

$$\% \text{ Rendamen} = \frac{8,6 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% = 4,3 \%$$

Ekstrak metanol daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr.) = 10,3 gram

$$\% \text{ Rendamen} = \frac{10,3 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% = 5,15 \%$$

2. Hasil fraksinasi

Tabel 1. Hasil fraksinasi ekstrak metanol daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr.)

No.	Fraksi	Berat (g)
1	A	1,8
2	B	0,7
3	C	0,4

3. Uji Imunostimulan

Senyawa-senyawa yang mempunyai prospek cukup baik yang dapat meningkatkan aktivitas sistem imun biasanya dari golongan flavonoid, kurkumin, limonoid, vitamin C, vitamin E (tokoferol) dan katekin. Hasil test secara *in vitro* dari flavanoid golongan flavones

dan flavonols telah menunjukkan adanya respon imun (Hollman *et al.*, 1996).

Kandungan flavanoid yaitu senyawa *quercetin* mampu meningkatkan kerja sistem imun, dimana leukosit sebagai pemakan antigen lebih cepat dihasilkan dan system limfoid lebih cepat pula diaktifkan serta meningkatkan aktivitas antibodi (Rahman MF, 2008). Daun katuk juga kaya akan vitamin (A, B, dan C), protein, lemak dan mineral. Salah satu bagian dari katuk bermanfaat sebagai pengobatan yaitu daunnya untuk mengobati demam, suara parau, dan pelancar ASI dan dapat meningkatkan respon sistem imun non-spesifik (Prapti Utami, 2008: 117).

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan metode maserasi bertingkat. Ekstrak metanol yang diperoleh selanjutnya difraksinasi dengan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV) dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak yang merupakan urutan eluen berdasarkan profil KLT ekstrak daun katuk. Hasil fraksinasi tersebut dikromatografi lapis tipis dan diperoleh 17 fraksi. Fraksi yang memiliki kromatogram dan warna bercak yang sama digabungkan dan diperoleh 3 fraksi gabungan. Selanjutnya dari 3 fraksi gabungan tersebut dicari profil KLT yang sesuai yang menunjukkan pemisahan senyawa yang baik. Profil KLT pada fraksi A dapat terpisah dengan baik pada eluen heksan : etil asetat (4:1), fraksi B dapat terpisah dengan baik pada eluen metanol

: air (2:1), pada fraksi C dapat terpisah dengan baik pada eluen etil : metanol (1:5). Setelah diperoleh profil KLT dilanjutkan dengan identifikasi komponen kimia dengan menggunakan pereaksi aluminium klorida, Besi (III) klorida, Dragendorf, Liebermen buchard, dan Asam sulfat. Hasil positif dari fraksi A, B, dan C yang diidentifikasi dengan pereaksi aluminium klorida yang berarti mengandung senyawa flavanoid dan pereaksi Asam sulfat yang berarti mengandung senyawa organik. Dan pada fraksi B dan fraksi C juga positif mengandung alkaloid yang diidentifikasi dengan pereaksi Dragendorf dan Fraksi B juga mengandung senyawa triterpen yang diidentifikasi dengan pereaksi Liebermen buchard. Dan yang dilanjutkan untuk uji imunostimulan yaitu fraksi A karena memiliki kromatogram yang terbaik dengan nilai Rf 0,81.

Selanjutnya diberikan perlakuan pada hewan coba dengan pemberian sampel fraksi daun katuk dan kontrol pembanding secara per oral selama tujuh hari. Namun sebelumnya hewan coba terlebih dahulu diaklimatisasi selama tujuh hari untuk menyesuaikan dengan lingkungan barunya, lalu dibagi menjadi lima kelompok. Kelompok pertama diinduksikan imboost force[®] sebanyak 0,975 mg/Kg BB digunakan sebagai pembanding positif dengan sampel uji, kelompok kedua sebagai kontrol negatif diinduksikan Na-CMC 1% sebagai pembanding negatif dengan sampel uji,

kelompok ketiga diinduksikan fraksi daun katuk konsentrasi 0,5%, kelompok keempat diinduksikan fraksi daun katuk konsentrasi 1%, dan kelompok kelima diinduksikan fraksi daun katuk konsentrasi 2%, hal tersebut dilakukan selama 7 hari. Pada hari kedelapan, setiap mencit diinfeksi intraperitoneal dengan 0,5 ml suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan dibiarkan selama satu jam. Selanjutnya mencit dieuthanasi dengan eter lalu dibedah perutnya dan mengambil cairan peritoneumnya dengan menggunakan mikro pipet untuk diamati karena pada bagian tersebut terdapat banyak makrofag. Selanjutnya, cairan peritoneum diambil dengan menggunakan pipet mikro. Cairan peritoneal ditetaskan pada hemositometer dan difiksasi dengan metanol selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan pewarna Giemsa 4%, didiamkan 20 menit, dibilas dengan air mengalir. Setelah kering, diamati di bawah mikroskop lalu dihitung aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag. Pada saat pengamatan setelah memberikan pewarna giemsa yang memberikan warna ungu pada makrofag aktif yang berhasil memfagositosis dengan adanya penampakan juluran prosesus.

Pada penelitian ini menggunakan *imboost force*[®] sebagai pembanding yaitu sebagai kontrol positif karena produk ini mengandung *Echinacea sp.* yang berperan sebagai anti inflamasi dan imunostimulan (Craig, 1999: 491).

Adapun hasil pengamatan uji imunostimulan dalam penelitian ini dianalisis datanya menggunakan RAL dengan menentukan terlebih dahulu nilai F hitung. Hasil pengujian ini didapat nilai non signifikan ($< \text{LSD } 0,05$ dan $0,01$), nilai signifikan ($> \text{LSD } 0,05$ dan $< \text{LSD } 0,01$), sangat signifikan ($> \text{LSD } 0,05$ dan $0,01$).

Pada uji LSD aktivitas fagositosis sel makrofag fraksi daun katuk dengan kontrol negatif memperlihatkan ada perbedaan yang sangat signifikan pada konsentrasi 0,5%, 1%, dan 2% dengan nilai sangat signifikan berturut-turut sebesar 38,5 ($> \text{LSD } 0,05$ dan $0,01$) ; 38,84 ($> \text{LSD } 0,05$ dan $0,01$) dan 38,92 ($> \text{LSD } 0,05$ dan $0,01$). Pada fagositosis sel makrofag fraksi daun katuk dibandingkan dengan kontrol positif memperlihatkan tidak berbeda nyata (non signifikan) pada konsentrasi 0,5%, 1%, dan 2% dengan nilai non signifikan berturut-turut 2,58 ($< \text{LSD } 0,05$ dan $0,01$) ; 2,92 ($< \text{LSD } 0,05$ dan $0,01$), dan 3 ($< \text{LSD } 0,05$ dan $0,01$). Hasil menandakan bahwa efek terhadap peningkatan aktivitas fagositosis sel makrofag fraksi daun katuk sebanding dengan peningkatan aktivitas fagositosis sel makrofag kontrol positif walaupun hasilnya tidak berbeda nyata.

Pada uji LSD kapasitas fagositosis sel makrofag fraksi daun katuk dengan kontrol negatif dan kontrol positif menunjukkan bahwa ada perbedaan yang sangat signifikan ($> \text{LSD } 0,05$ dan $0,01$) dari tiap-tiap konsentrasi yaitu 0,5%, 1%, dan 2%. Hal ini menandakan bahwa

terjadi peningkatan kapasitas fagositosis sel makrofag dibandingkan dengan kontrol negatif walaupun peningkatan kapasitas fagositosis sel makrofag fraksi daun katuk tersebut tidak sebesar kontrol positif.

Berdasarkan mekanisme kerjanya yang dapat meningkatkan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum mencit (*Mus musculus*) jantan secara *in vitro*, maka fraksi daun katuk dapat digolongkan sebagai imunostimulan. Namun, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara klinis mengenai uji efek imunostimulan fraksi daun katuk tersebut.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa fraksi daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) dapat memberikan pengaruh terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag. Konsentrasi yang lebih berpotensi memberikan efek imunostimulan dari fraksi daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) adalah pada kelompok kelima dengan pemberian fraksi 2%/kg BB serta dalam tinjauan Islam fraksi daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat.

KEPUSTAKAAN

Baratawidjaja, KG. *Imunologi Dasar*. Edisi 7. Jakarta : Balai Penerbit FKUI, 2006.

Djide, M. N, Sartini. *Analisis Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin, 2006.

Harbone, J.B, *Metode Fitokimia*. Bandung: Penerbit ITB, 1987.

Hollman, P.C.H, M.G.L. Hertog and M.B. Katan,. *Analysis and Health Effects of Flavonoids*. Food Chemistry, 1996.

James, Joyce. *Prinsip-Prinsip Sains Untuk Keperawatan*. Jakarta: Penerbit Erlangga, 2008.

Malik, A. *Tinjauan Fitokimia, Indikasi Penggunaan dan Bioaktivitas Daun Katuk dan Buah Trengguli*. Warta Tumbuhan Obat Indonesia 3(3): 39.

Prasad, et al. *Zinc Supplementation decreases Incidence Of Infection In The Elderly; Effect Of Zinc On Generation Of Cytokines And Oxidative Stress*. Am. J. Clin. Nutr, 2007.

Roit IM, Brostoff J, Male J. *Immunology*, 3rd ed. St Louis Mosby Co, 1993.

Rossidy, I. "*Fenomena Flora dan Fauna dalam Perspektif Al-Qur'an*". Malang: UIN Press, 2008.

Sastroamidjojo, H. *kromatografi*. Yogyakarta: Liberty, 1985.

Schulz V, dkk. *Rational Phytotherapy*., Mager 5th. Berlin: Springer Verlag, 2004.

Setiadi. *Anatomi Fisiologi Manusia*. Yogyakarta: Graha Ilmu, 2007.

Setyowati, F, M. *Arti Katuk Bagi Masyarakat Dayak Kenyah*. The journal on Indonesian Medicine Plants 3, 1997.

Suwarto, Agus. *9 Buah dan Sayur Tangkal Penyakit*. Yogyakarta: Liberplus, 2010