

UJI EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L.) TERHADAP TITER IMUNOGLOBULIN M (IgM) DAN IMUNOGLOBULIN G (IgG) PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)

Maulita Indrisari¹, Habibie² Sitti Rahimah³

¹Akademi Farmasi Kebangsaan Makassar

²Universitas Hasanuddin

³Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar

Email : maulitaindrisari@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) terhadap titer imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG) pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini dilakukan dengan 3 dosis yang berbeda yaitu 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 150 mg/kgBB yang diberikan secara peroral selama 7 hari, kemudian sehari setelah itu diimunisasi dengan antigen sel darah merah domba 2% secara intraperitoneal sebanyak 0,5 mL. Pengamatan titer Imunoglobulin M (IgM) dilakukan pada hari keenam dan Imunoglobulin G (IgG) dilakukan pada hari ke sebelas dengan mengambil darah tikus melalui vena lateral kemudian di uji dengan menggunakan metode hemaglutinasi titer antibodi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jarak pagar dapat meningkatkan titer antibodi imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG) meskipun tidak signifikan menurut analisis statistik.

Kata kunci : *Jatropha curcas* L, IgM, IgG, *Rattus novergicus*

PENDAHULUAN

Upaya pencegahan penyakit salah satunya dengan meningkatkan efektivitas sistem imunitas tubuh agar sel-sel imun dapat terus melawan penyebab penyakit dan tubuh dapat terhindar dari berbagai penyakit (Tjokronegoro A, 1990). Ketika penyakit menyerang, maka sistem imunitas tubuh akan membunuh penyebab penyakit tersebut dengan mekanisme tidak langsung yaitu dengan cara meningkatkan ketahanan sel. Ini merupakan salah satu alasan untuk meningkatkan sistem imun (Winarno, 2000).

Sistem imun mengacu pada kemampuan tubuh untuk mengidentifikasi dan menolak mikroorganisme yang berpotensi berbahaya. Kemampuan ini

memungkinkan tubuh untuk melawan atau mencegah infeksi penyakit dan menghambat kerusakan jaringan dan organ (Arya dkk, 2011). Sistem imun juga harus mampu memberikan respon terhadap sejumlah besar antigen asing yang masuk ke dalam tubuh. Sistem kekebalan tubuh tidak terbatas pada satu bagian tubuh (Soeroso, 2007).

Antibodi adalah protein globulin (imunoglobulin) yang bereaksi secara spesifik dengan antigen yang menstimulasi produksinya. Tergantung dari jenis antigennya, imunoglobulin utama dalam serum darah manusia adalah IgG yang mencakup 70 hingga 75 persen dari imunoglobulin. IgM adalah antibodi pertama yang dibentuk dalam respon

imun. IgM dibentuk paling dahulu pada respon imun primer dibanding IgG, karena itu kadar IgM yang tinggi merupakan petunjuk adanya infeksi dini. Bilamana antigen asing dikenalkan ke dalam hospes untuk pertama kalinya, sintesis antibodi IgM mendahului IgG (Bratawidjaja, 2006).

Imunomodulator merupakan bahan atau agen yang dapat berinteraksi dengan sistem imun dan menyebabkan peningkatan atau penurunan aspek spesifik respon imun. Respon imun dapat diartikan sebagai suatu sistem agar tubuh dapat mempertahankan keseimbangan antara lingkungan diluar dan didalam (Bratawidjaja, 2002). Terkadang sistem kekebalan tubuh manusia menurun yang biasa disebabkan oleh beberapa faktor seperti lingkungan misalnya stres, perubahan temperatur yang ekstrim, luka atau trauma terhadap tubuh, dan terpapar penyakit (Vogel, 2006). Senyawa-senyawa kimia yang dapat membantu untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dapat diperoleh dari tanaman. Tanaman obat yang bekerja pada sistem imun bukan hanya bekerja sebagai efektor yang langsung menghadapi penyebab penyakitnya, melainkan bekerja melalui pengaturan imunitas. (Subowo, 1996).

Salah satu tanaman yang memiliki kandungan sebagai imunomodulator adalah jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). Pada penelitian terdahulu terhadap daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) mengatakan bahwa tanaman ini

menunjukkan aktivitas imunomodulator (Abd-Alla dkk, 2009). Penelitian sebelumnya mengatakan bahwa Curcusone B, Jatrophone dan jatropholone A merupakan tiga senyawa golongan diterpenoid yang diisolasi dari tanaman *Jatropha*. Curcusone B dan Jatropholone A diisolasi dari tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*). Jatrophone diperoleh dari isolat tanaman Jarak merah (*Jatropha gossipyfolia*) (Wahyuni, 2013) dan jatrophine yang mengandung alkaloid (Nurcholis dan sumarsih, 2007). Berdasarkan pernyataan diatas maka dilakukan penelitian uji efek etanol ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) terhadap titer imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG) pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*).

METODE PENELITIAN

A. Pengolahan Sampel

Sampel daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dicuci bersih, kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dilemari pengering

B. Ekstraksi Sampel

Sampel sebanyak 500 gram yang telah dikeringkan dimasukkan ke dalam bejana maserasi dengan cairan penyari etanol 70%. Kemudian sampel didiamkan selama 3 x 24 jam, sambil sesekali diaduk dan terlindungi dari paparan sinar matahari langsung. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan kemudian disaring dan

diuapkan dengan cara diangin-anginkan hingga diperoleh ekstrak kental.

C. Pengujian Titer Immunoglobulin M (IgM) dan Immunoglobulin G (IgG) Pada Hewan Uji

1. Penyiapan *Phosphat Buffered Saline* (PBS)

Phosphat Buffered Saline (PBS) disiapkan dengan terlebih dahulu membuat larutan A yaitu larutan NaH_2PO_4 1,3 g/l dan NaCl 8,3 g/l dan larutan B yaitu larutan NaH_2PO_4 1,42 g/l dan NaCl 8,5 g/l. Selanjutnya 280 mL larutan A ditambahkan pada 720 mL larutan B untuk mendapatkan larutan PBS dengan pH 7,2 (Endjo, 2003).

2. Penyiapan Suspensi Sel Darah Merah Domba (SDMD) 2% b/v

Darah domba segar yang telah diberi antikoagulan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm untuk memisahkan plasma dari sel darah merah. Lapisan atas yang berupa plasma dibuang dengan pipet Pasteur dan pada lapisan bawah yang berupa endapan sel darah merah, ditambahkan larutan PBS pH 7,2 sebanyak dua kali volume SDMD yang tersisa. Tabung kemudian dibolak-balik dengan perlahan-lahan sampai SDMD tersuspensi secara homogen, kemudian disentrifugasi lagi. Pencucian dilakukan paling sedikit 5 kali. Prosedur ini diulang sampai lapisan atas benar-benar jernih dan tidak berwarna. Lapisan atas yang jernih dibuang dan lapisan bawah adalah suspensi SDMD 100%. Suspensi SDMD

100% tambahkan PBS dengan volume sama sehingga di dapat suspensi SDMD 50%. Disiapkan antigen dengan pengenceran 0,4 mL suspensi SDMD 50% dengan 9,6 mL PBS diperoleh 10 mL suspensi antigen SDMD 2% b/v (Kresno, 2004).

D. Pemilihan Dan Penyediaan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan sebanyak 12 ekor yang dengan bobot berat rata-rata 150-200 gram dibagi atas 4 kelompok dan tiap kelompok terdiri atas 3 ekor.

E. Perlakuan Terhadap Hewan Uji

1. Kelompok Kontrol Negatif

Tikus diberi suspensi Na. CMC 1% secara oral setiap hari selama 7 hari. Pada hari ke-8, tikus diimunisasi dengan 0,5 mL sel darah merah domba 2% secara intraperitoneal. Selanjutnya, pada hari ke-6 setelah imunisasi darah tikus diambil melalui vena lateral untuk mengetahui aktivitas IgM dan hari ke-11 setelah imunisasi darah tikus diambil melalui vena lateral untuk mengetahui aktivitas IgG.

2. Kelompok Perlakuan (Dosis 50, 100 dan 150 mg/kgBB)

Tikus diberi suspensi ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan kelompok dosis (50, 100 dan 150 mg/kgBB) secara oral setiap hari selama 7 hari. Pada hari ke-8, tikus diimunisasi dengan 0,5 mL sel darah merah domba 2% secara intraperitoneal. Selanjutnya, pada hari ke-6 setelah imunisasi darah tikus diambil melalui vena lateral untuk

mengetahui aktivitas IgM dan hari ke-11 setelah imunisasi darah tikus diambil melalui vena lateral untuk mengetahui aktivitas IgG.

F. Pengambilan Sampel Darah Hewan Uji

Pada hari ke-6 untuk IgM dan hari ke-11 untuk IgG setelah pemberian SDMD 2% darah diambil secara intravena pada vena lateral lalu dibiarkan membeku/menggumpal pada suhu kamar selama 1-2 jam yang selanjutnya disentrifuge dengan kecepatan 300 rpm selama 10 menit dan diambil serumnya (Kresno, 2004)

G. Uji Hemaglutinasi

Serum yang diperoleh selanjutnya diencerkan secara "double dilution" 1/4., 1/8, 1/6, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512 dengan PBS, sebanyak 50 µl setiap sumur pada piring mikrotitrasi (*well plate 96*) selanjutnya pada tiap sumur ditambahkan 50 µl suspensi sel darah merah domba 2% lalu diaduk rata (digoyang-goyang) selama 5 menit. Selanjutnya di inkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit dan didiamkan semalam pada suhu kamar. Dilakukan pengamatan pengenceran tertinggi dan serum darah tikus jantan yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba (Kresno, 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sistem imun ini diperlukan tubuh untuk mempertahankan diri terhadap lingkungan hidup. Pertahanan tubuh berkaitan dengan antibodi, dimana

antibodi (immunoglobulin) merupakan golongan protein yang dibentuk sel plasma (poliferasi sel B) akibat kontak dengan antigen. Antibodi yang dibentuk terhadap antigen yang sebelumnya pernah mensensitasi tubuh bersifat spesifik. Antibodi tersebut hanya dapat berkaitan dengan antigen yang cocok (Bratawidjaja, 2006).

Salah satu tanaman yang memiliki kandungan sebagai immunomodulator adalah Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.). Jarak pagar mengandung flavonoid yang memiliki kemampuan immunomodulator yang dapat meningkatkan produksi IL-2 (interleukin 2). IL-2 merangsang proliferasi dan diferensiasi sel T. Kemudian sel T berdiferensiasi menjadi Th1 (T helper 1). Sel Th1 mensekresi berbagai macam produk antara lain IFN-γ (interferon gamma) yang potensial mengaktivasi makrofag (Titisanti, 2005).

Antigen yang digunakan untuk induksi produksi antibodi pada penelitian ini adalah sel darah merah domba (SDMD). SDMD merupakan antigen polivalen yang merupakan protein dengan determinan potensial yang lebih besar dibandingkan dengan antigen monovalen. Pemberian suspensi ekstrak daun jarak pagar dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 150 mg/kgBB dilakukan selama 7 hari berturut-turut secara peroral. Pada hari ke-8 antigen ini (SDMD 2%) diinjeksikan ke dalam tubuh tikus secara intraperitoneal.

Hari ke-6 setelah penginduksian SDMD 2%, darah tikus diambil melalui vena lateral untuk mengamati aktivitas IgM dan hari ke-11 untuk IgG. Selama kurun waktu tersebut, diharapkan telah terjadi sensitasi sel B yang akan berproliferasi, berdiferensiasi dan berkembang menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi yaitu IgM dan IgG. Pada respon imun primer, terbentuk IgM (Bratawidjaja, 2006). IgM merupakan imunoglobulin yang pertama kali diproduksi sebagai respon imun terhadap antigen yang diikuti pengalihan ke produksi IgG. Hal ini tergantung dari sinyal Th yang memerlukan ikatan dengan CD40 dipermukaan sel T dan dengan CD40 di sel B (Bratawidjaja, 2006).

Pengujian terhadap serum darah tikus diuji dengan menambahkan antigen yang sama dengan antigen yang diinjeksikan yaitu sel darah merah domba (SDMD 2%). Interaksi antara antigen dengan antibodi menyebabkan terjadinya reaksi sekunder yaitu berupa aglutinasi atau presipitasi sebab antigen merupakan partikel-partikel kecil yang tidak larut (Bratawidjaja, 2006). Gumpalan yang terbentuk antara antigen dan anti serum spesifik akan bersatu dan akhirnya mengendap sebagai gumpalan-gumpalan besar dan mudah terlihat dengan cairan di atasnya tetap jernih (Soewoto, 2001). Hal ini karena umumnya antibodi memiliki lebih dari satu reseptor pengikat antigen sehingga antibodi bereaksi dengan

molekul antigen lain yang mungkin sudah berikatan dengan salah satu molekul antibodi dan terbentuklah gumpalan (Roitt, 2003). Reaksi aglutinasi baru dapat terjadi bila rasio antara antigen dan antibodi seimbang (Bratawidjaja, 2006). Sehingga terbentuk zona ekuivalen, dibantu oleh inkubasi suhu 37°C dan oleh gerakan yang menambah kontak antigen dan antibodi (misalnya mengocok, mengaduk dan memutar) serta berkumpulnya gumpalan memerlukan garam-garam yang berasal dari PBS dengan pH 7,2 yang digunakan (Kresno, 2004).

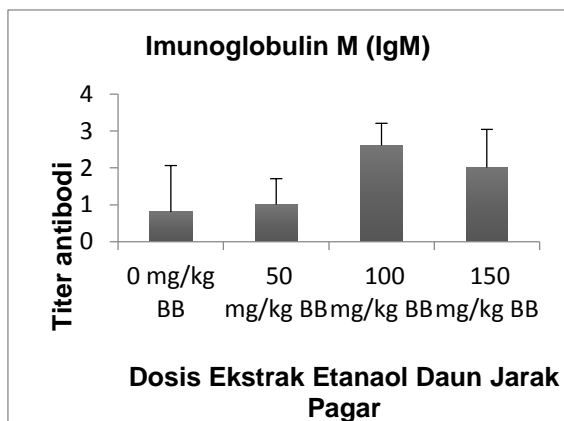
Tabel 1. Titer imunoglobulin pada serum darah tikus putih jantan yang diberi perlakuan Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) dengan variasi dosis dibandingkan dengan kontrol

Perlakuan beserta dosis	Replika-si	IgM		IgG	
		A	B	A	B
Kontrol negatif	1	¼	0,20	¼	0,20
	2	1/8	0,81	1/32	2,01
	3	1/16	1,41	1/8	0,81
50 mg/kgBB	1	1/4	0,20	1/32	2,01
	2	1/16	1,41	1/32	2,01
	3	1/16	1,41	1/32	2,01
100 mg/kgB B	1	1/128	3,21	1/64	2,61
	2	1/64	2,61	1/32	2,01
	3	1/32	2,01	1/64	2,61
150 mg/kgB B	1	1/64	2,61	¼	0,20
	2	1/64	2,61	1/128	3,21
	3	1/8	0,81	1/128	3,21

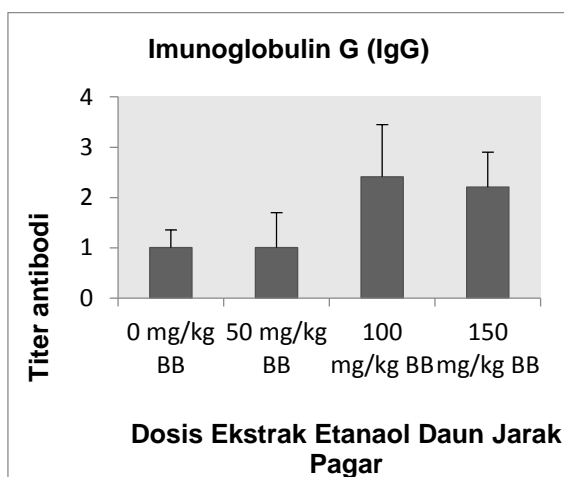
Keterangan :

A : Data titer aglutinasi

B : Data titer setelah ditransformasi dengan $| [2 \log(\text{titer})+1]$



Gambar 5. Diagram Titer Immunoglobulin M (IgM) Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L*)



Gambar 6. Diagram Titer Immunoglobulin G (IgG) Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L*)

Pada gambar diatas menunjukkan bahwa adanya peningkatan titer imunoglobulin M (IgM) maupun imunoglobulin G (IgG) setelah pemberian ekstrak daun jarak pagar dengan peningkatan tertinggi diperoleh pada konsentrasi 100 mg/kgBB. Pada konsentrasi yang lebih tinggi (150 mg/kgBB) terjadi penurunan titer imunoglobulin. Disebabkan karena beberapa seri pengenceran menunjukkan tidak terjadinya aglutinasi, hal ini dikarenakan ketidakseimbangan

JF FIK UINAM Vol.5 No.4 2017

perbandingan antara antigen-antibodi. Kondisi antibodi berlebihan menyebabkan kompleks antigen-antibodi tetap dalam larutan tanpa membentuk aglutinasi, sedangkan antigen yang berlebihan akan mengakibatkan melarut kembalinya kompleks antigen-antibodi yang terbentuk (Kresno S.B, 2010). Data titer antibodi baik IgM dan IgG kemudian dianalisis secara statistik. Hasil pengolahan data menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan diantara kelompok perlakuan baik IgG maupun IgM dimana nilai $F_h < F_t$.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data secara statistika, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas L*) dapat meningkatkan titer imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG) meskipun tidak signifikan menurut analisis statistik.

KEPUSTAKAAN

- Abd-Alla, H.I., Moharram F.A., Gaara A.H., El-Safty M.M. *Phytoconstituents Of Jatropha curcas L. Leaves and Their Immunomodulatory Activity On Humoral and Cell-Mediated Immune Response In Chicks*. Zeitschrift Fur Naturforschung C 64: 495-5001. 2009
- Arya, Vikrant ., Sharma, Rohini., Rohilla, Anjai. *A Short Review On Pharmacology Of Plant Immunomodulators*. International Journal Of Pharmaceutical Sciences Review and Research. Vol 9. 2011

- Bratawidjaja, K.G. *Imunologi Dasar Edisi VII*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal 6, 19, 34, 71, 75,76. 2006
- Bratawidjaja, K.G. *Imunologi Dasar Edisi II*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal 199-25. 2002
- Endjo, D. *Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Tanaman Obat Potensial*. Perkembangan Teknologi. Vol. XV No.1. Hal. 20. 2003
- Tjokronegoro A. *Peranan mikroorganisme dan komponennya sebagai imunomodulator sistem imun tubuh manusia*. Majalah Kedokteran Indonesia. 1990.
- Kresno, S.B. *Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium Edisi IV*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 4-5, 11-12, 15-16, 44-47, 53-54, 408-409. 2004
- Kresno S B. *Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2010.
- Nurcholis, M dan Sumarsih, S. *Jarak Pagar dan Pembuatan Biodiesel*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 2007
- Roitt, I. *Imunologi: Essensial Immunology, Ed.8*. Widya Medika. Jakarta. Hal. 104-105. 2003
- Soeroso, Admadi. *Sitokin*. Jurnal Oftamologi Indonesia Vol. 5, No. 3. . Hal. 171-180. 2007
- Soewoto, H. *Biokimia Eksperimen Laboratorium*. Widya Medika. Jakarta. Hal. 71-73. 2001
- Subowo. *Efek Imunomodulator Dari Tumbuhan Obat*. Warta Tumbuhan Obat Indonesia 3(1). Hal. 1-4. 1996
- Titisanti, B. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Rumput Mutiara (Hedyotis corymbosa) Dosis Bertingkat Terhadap Produksi NO Magrofag Mencit*. Artikel Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang. 2005
- Vogel, F.R. *Stress In The Workplace: The Phenomenon, Some Key Correlates and Problem Solving Approach*. Pretoria: Faculty of Humanities University of Pretoria. 2006
- Wahyuni. *Aktivitas Antikanker Curcusone B, Jatrophone dan Jatropholone A Terhadap Caspase-3 dan p53 Pada Sel Kanker Hela*. Universitas Hasanuddin. Makassar. 2013
- Winarno, M. *Pengaruh Aktivitas Biologik Jus Benalu Teh (Scrolla atropurpurea Bl. Dancser) Terhadap Aktivitas Sistem Imun Mencit*. Cermin Dunia Kedokteran Vol.1 No.127 Hal.1. 2000