

**EKSTRAKSI DAN FRAKSINASI DAUN SOM JAWA SERTA
POTENSINYA SEBAGAI IMUNOMODULATOR**

MODUL KARYA TEKNOLOGI



Penyusun :

Ika Puspitaningrum, M.Sc., Apt.
Yuvianti Dwi Franyoto, M.Sc., Apt.

**SEKOLAH TINGGI ILMU FARMASI
"YAYASAN PHARMASI SEMARANG"
SEPTEMBER 2018**

EKSTRAKSI DAN FRAKSINASI DAUN SOM JAWA SERTA POTENSINYA SEBAGAI IMUNOMODULATOR

1. Latar Belakang

Flavonoid adalah suatu senyawa yang mengandung 15 karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Flavonoid larut dalam pelarut polar, seperti etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), aseton, dimetilsulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), air, dan lain-lain (Markham, 1988).

Beberapa flavonoid bersifat lipofilik yang dapat mempunyai mekanisme antibakteri dengan cara membentuk kompleks flavonoid dengan dinding sel bakteri sehingga menyebabkan terganggunya permeabilitas sel yang mengakibatkan pengangkutan zat-zat ke dalam sel terganggu dan selanjutnya menyebabkan lisisnya sel bakteri (Jawetz *et al.*, 1996; Pelczar and Chan, 1988).

Som jawa (*Tallinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn) merupakan tumbuhan yang bagian daunnya mengandung banyak senyawa metabolit sekunder, salah satunya adalah flavonoid. Flavonoid tersebut banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang, misalnya farmasi. Pengujian aktivitas farmakologi dari daun som jawa saat ini lebih banyak menunjukkan adanya efek antifertilitas, anti radang, aktivitas estrogenik (Thanamool, dkk., 2013; Rahmi, dkk., 2011; Sumastuti, 1999). Hasil pengujian terakhir efek farmakologi terhadap ekstrak daun som jawa menunjukkan efek biologi yang beragam, yaitu antibakteri, dan antikeputihan (Prasetyaningrum, dkk., 2014). Skrining fitokimia dan standarisasi terhadap som jawa menunjukkan adanya flavonoid, saponin, tannin dan senyawa polifenol lain (Suharsanti, dkk., 2014).

Lingkungan di sekitar manusia mengandung berbagai jenis unsur patogen, misalnya bakteri, protozoa dan parasit yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia. Infeksi yang terjadi pada orang normal umumnya singkat dan jarang meninggalkan kerusakan permanen (Kresno, 2010).

Pada keadaan normal, paparan mikroorganisme patogen terhadap tubuh dapat dilawan dengan adanya sistem pertahanan tubuh (sistem imun) yang bekerja secara humoral maupun seluler. Hal ini berhubungan dengan peran yang ditunjukkan oleh fungsi dan jumlah sel imun.

Namun pada saat fungsi dan jumlah sel imun kurang memadai, paparan mikroorganisme patogen dapat menimbulkan berbagai penyakit terutama terkait dengan penyakit infeksi. Salah satu cara mempertahankan sistem imun adalah dengan pemberian imunomodulator, terutama zat yang meningkatkan sistem imun (Kusmardi dan Triana, 2007).

Imunomodulator merupakan senyawa yang mengubah aktivitas sistem imun tubuh dengan dinamisasi regulasi sel-sel imun seperti sitokin (Spelman *et al.*, 2005). Cara kerja Imunomodulator meliputi: mengembalikan fungsi imun yang terganggu (imunorestorasi), memperbaiki fungsi sistem imun (imunostimulasi) dan menekan respons imun (imunopresi). Imunomodulator digunakan terutama pada penyakit imunodefisiensi, infeksi kronis dan kanker (Katzung, 2002).

Sistem imun bila terpapar oleh zat yang dianggap asing, maka ada dua jenis respon imun yang mungkin terjadi, yaitu: respon imun non spesifik dan respon imun spesifik. Respon imun non spesifik umumnya merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*) dalam arti bahwa respon terhadap zat asing dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar dengan zat tersebut, sedangkan respon imun spesifik umumnya merupakan respon imun didapat (*acquired*) yang timbul terhadap antigen tertentu (Kresno, 2001).

Adanya senyawa-senyawa bioaktif yang dapat meningkatkan aktivitas sistem imun, sangat membantu untuk mengatasi penurunan sistem imun dan senyawa-senyawa tersebut dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan. Daun Som Jawa secara empiris digunakan untuk menguatkan sistem kekebalan tubuh (Rusli dan Towaha, 2010). Flavonoid terbukti dapat meningkatkan sistem imun dengan cara memicu proliferasi limfosit, meningkatkan jumlah sel T dan meningkatkan aktivitas IL-2 (Jiao *et al.*, 1999).

Sampai saat ini, senyawa flavonoid dalam daun Som Jawa belum pernah diuji aktivitas farmakologinya sebagai imunomodulator. Penelitian perlu dilakukan lebih mendalam dan menyeluruh terhadap kandungan senyawa flavonoid dalam daun Som Jawa, sehingga diharapkan dapat mengangkat tumbuhan ini sebagai bagian dari pengobatan modern.

2. Tinjauan

2.1. Som Jawa

Ginseng adalah tanaman obat yang telah dikenal luas di dunia sebagai obat berkhasiat yang dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit, serta dapat menjaga kesehatan, dan sebagai pemulih stamina. Indonesia memiliki satu jenis tumbuhan ginseng yaitu dengan nama ginseng Jawa. Ginseng Jawa ada dua macam yaitu : 1). Som Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn) dan 2). Kolesom (*Talinum triangulare* Willd). Keduanya termasuk suku Portulacacea (Rusli dan Towaha, 2010).

Som jawa ditanam sebagai tanaman hias atau tanaman obat, kadang ditemukan tumbuh liar. Tumbuhan ini berasal dari Amerika Tropis. Akarnya berdaging tebal, biasanya digunakan sebagai pengganti kolesom. Di Jawa tumbuh pada ketinggian 5-1250 m di atas permukaan laut. Ternak tahunan, tegak, tinggi 30-60 cm, batang bercabang di bagian bawah dan pangkalnya mengeras. Daun tunggal, letak berhadapan, bertangkai pendek, bundar telur sungsang, tepi rata, ujung dan pangkal runcing, panjang 3-10 cm, lebar 1,5-5 cm. Perbungaan majemuk dalam malai di ujung tangkai, berbentuk anak payung menggarpu yang mekar di sore hari, warnanya merah ungu. Buahnya buah kotak, diameter 3 mm, bijinya kecil, hitam, bulat gepeng.

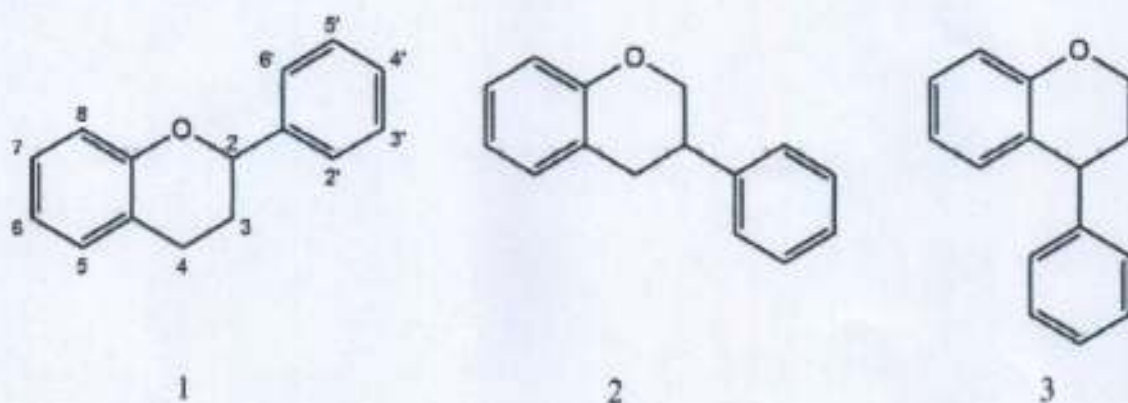
Som jawa merupakan salah satu tanaman obat yang akar dan daunnya mempunyai banyak khasiat sebagai obat tradisional. Akarnya dapat digunakan sebagai tonikum, afrodisiaka, batuk-batuk, radang paru-paru, diare, haid tidak teratur, keputihan dan dapat memperbanyak ASI. Sedangkan daun segarnya dapat dipergunakan sebagai lalapan, sayur tumis, memperlancar ASI, untuk obat bisul dan pembengkakan (anti radang) (Sudarsono *et al*, 2002).

Kandungan bahan aktifnya hampir sama dengan ginseng Korea yaitu saponin, flavonoid, tamin dan steroid (Kalium 41,44%, Natrium 10,03%, Kalsium 2,21%, Magnesium 5,50 % dan Besi 0,32%), berfungsi membantu mengoptimalkan metabolisme dalam tubuh dan penyerapan zat gizi dengan cara memperbaiki fungsi pencernaan. Som Jawa merupakan salah satu tanaman obat yang akar dan daunnya mempunyai banyak khasiat sebagai obat tradisional. Akarnya dapat digunakan sebagai tonikum, afrodisiak/obat kuat, batuk-batuk, radang paru-paru, diare, haid tidak teratur, keputihan dan dapat memperbanyak ASI. Ekstrak akar mengandung lebih dari 200 macam zat yang secara keseluruhan berkhasiat di antaranya untuk perangsang, tonikum dan penyegar dan meningkatkan ke-harmonisan seks (Rusli dan Towaha, 2010).

Sedangkan daun segarnya dapat dipergunakan sebagai lalapan, sayur tumis, memperlancar ASI, untuk obat bisul dan pembengkakan (anti radang), selain mengandung saponin dan flavonoid, juga mengandung steroid dan minyak atsiri obat bisul, meningkatkan nafsu makan (stomakik). Saponin mempunyai efek antiradang, sedangkan flavonoid dapat mengurangi pembengkakan, antibakteri, antivirus dan antihistamin. Penggunaan ginseng secara teratur bermanfaat untuk mencegah penyakit alzheimer (penurunan fungsi otak), menurunkan kandungan gula dalam tubuh bagi penderita diabetes, mengatasi masalah penuaan (aging process), menguatkan sistem kekebalan tubuh, menurunkan kadar kolesterol dan mencegah penyakit kanker (Rusli dan Towaha, 2010).

2.2. Flavonoid

Kata dari "flavonoid" merupakan kata yang merujuk pada senyawa bahan alam yang mengandung dua cincin aromatik benzena yang dihubungkan oleh 3 atom karbon, atau suatu fenilbenzopiran (C6-C3-C6). Bergantung pada posisi ikatan dari cincin aromatik benzena pada rantai penghubung tersebut, kelompok flavonoid dibagi menjadi 3 kelas utama, flavonoid, isoflavonoid, dan neoflavonoid (Grotewold, 2006). Perbedaan struktur kelas utama tersebut dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur umum flavonoid (1), isoflavonoid (2), dan neoflavonoid (3)

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan didalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik

A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk 17 teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid kedalam sub-sub kelompoknya. Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon disekitar molekulnya (Redha, 2010: 197).

Kegunaan flavonoid yaitu sebagai berikut:

a. Pada tanaman

Flavonoid memberikan perlindungan terhadap adanya stres lingkungan, pengatur pertumbuhan tanaman. Perlindungan terhadap radiasi ultraviolet dan daya tarik penyerbuk serangga (Vidak, 2015: 19407), jamur, virus, dan bakteri, disamping sebagai pengendali hormon dan enzim inhibitor (Winarti, 2010: 207). Flavonoid terlibat dalam filtrasi UV, fiksasi simbiosis dan pigmentasi bunga (Gupta, 2015: 2).

b. Pada manusia

Flavonoid pada manusia berfungsi sebagai stimulan pada jantung, diuretik, menurunkan kadar gula darah, dan sebagai antijamur, memiliki fungsi sebagai antibakteri, antiinflamasi, antitumor, antialergi, dan mencegah osteoporosis. Flavonoid dapat mencegah penyakit kardiovaskuler dengan cara menurunkan laju oksidasi lemak karena peranannya sebagai antioksidan. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa flavonoid menurunkan hiperlipidemia pada manusia. Penghambatan oksidasi oksidasi LDL pada kasus penyakit jantung oleh flavonoid, dapat mencegah pembentukan sel-sel busa dan kerusakan lipid (Nurjanah, 2011: 122- 123).

2.3. Imunomodulator

Imunomodulator merupakan senyawa yang mengubah aktivitas sistem imun tubuh dengan dinamisasi regulasi sel-sel imun seperti sitokin (Spelman *et al.*, 2005). Cara kerja Imunomodulator meliputi : mengembalikan fungsi imun yang terganggu (imunorestorasi), memperbaiki fungsi sistem imun (imunostimulasi) dan menekan respons imun (imunopresi). Imunomodulator digunakan terutama pada penyakit imunodefisiensi, infeksi kronis dan kanker (Katzung, 2002).

Sistem imun bila terpapar oleh zat yang dianggap asing, maka ada dua jenis respon imun yang mungkin terjadi, yaitu:

a. Respon imun non spesifik

Sistem imun non spesifik merupakan sistem imun bawaan (*innate immunity*) dalam arti bahwa respon terhadap zat asing dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar dengan zat tersebut. Sistem imun non spesifik berfungsi memberikan respon dini terhadap patogen dan juga memegang peranan penting dalam menginduksi respon imun spesifik. Respon imun spesifik / didapat menggunakan berbagai mekanisme efektor sistem imun non spesifik / bawaan untuk menyingkirkan patogen dan juga meningkatkan fungsi sistem imun bawaan. Terjadi interaksi antara kedua sistem imun tersebut, menghasilkan suatu aktivitas biologik untuk melawan patogen / zat asing yang masuk ke dalam tubuh (Kresno, 2001). Sistem imun non spesifik terdiri dari sel fagosit, basofil dan sel mast, serta sel NK (*natural killer*).

b. Respon imun spesifik

Respon imun spesifik umumnya merupakan respon imun didapat (*acquired*) yang timbul terhadap antigen tertentu (Kresno, 2001). Sistem imun spesifik mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Benda asing yang pertama kali terpajan dengan tubuh segera dikenal oleh sistem imun spesifik. Paparan tersebut menimbulkan sensitasi, sehingga antigen yang sama dan masuk tubuh untuk kedua kali akan dikenal lebih cepat dan kemudian dihancurkan. Oleh karena itu, sistem tersebut disebut spesifik. Untuk menghancurkan benda asing yang berbahaya bagi tubuh, sistem imun spesifik dapat bekerja tanpa bantuan sistem imun non spesifik, namun umumnya terjalin kerjasama yang baik antara komplemen fagosit-antibodi dan antara makrofag-sel T (Baratawidjadja, 2006).

Limfosit merupakan sel yang memainkan peranan penting dalam sistem imun spesifik karena sel ini mampu mengenali setiap antigen yang masuk ke dalam tubuh, baik yang terdapat intraseluler maupun ekstraseluler. Limfosit dibedakan menjadi dua jenis yaitu limfosit T dan limfosit B. Sistem imun spesifik dapat dibagi dalam tiga golongan, yaitu sistem imun seluler, sistem imun humoral dan interaksi antara sistem imun seluler dengan sistem imun humoral (Kresno, 2001).

2.4. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan tahap awal untuk melepaskan senyawa dari suatu sampel atau matriks sehingga diperoleh ekstrak kasar yang masih berisi campuran senyawa yang sangat kompleks (Cannell, 1998).

Metode dasar ekstraksi biasanya menggunakan pelarut organik seperti maserasi, perkolasi, dan soxhletasi atau ekstraksi menggunakan pelarut air seperti infusa, decocta, dan *steam distillation* (Silva *et al.*, 1998). Larutan pengekstraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa-senyawa yang diinginkan. Larutan pengekstraksi yang digunakan adalah n-heksana, etil asetat, etanol (Voight, 1995).

3. Metode

3.1. Ekstraksi Daun Som Jawa

Serbuk daun som jawa diremaserasi dengan 1 liter etanol 96% selama 5 hari, sampai filtrat jernih. Hasil filtrat dari penyarian ini digabung dan diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental.

3.2. Fraksinasi

Ekstrak kental kemudian difraksinasi dengan n-heksana dan dilakukan berulang-ulang. Hasil filtrat dari penyarian ini digabung dan diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental. Kemudian fraksi metanol:air (9:1 $\%$) diuapkan hingga habis metanol dan selanjutnya difraksinasi dengan menggunakan air dan etil asetat dengan perbandingan 1:1, dilakukan berulang-ulang sampai pelarut jernih, sehingga akan diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi air. Hasil filtrat dari penyarian ini diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh fraksi kental.

3.3. Uji Imunomodulator

a. Uji Respon Imun Non Spesifik

Uji Bersihan Karbon

Pengujian terhadap respon imun non spesifik didasarkan pada aktivitas fagositik. Kelompok I kontrol negatif plasebo, kelompok II kontrol positif suspensi herba Meniran, kelompok III, IV, V ekstrak Som Jawa dosis 1, 2, 3 mg/20 g BB mencit, kelompok VI, VII, VIII fraksi Som Jawa dosis 1, 2, 3 mg/20 g BB mencit. Perlakuan diberikan satu kali sehari selama 5 hari secara oral. Pada hari ke-6 sebelum diinduksi, masing-masing kelompok diambil darah sebagai nilai awal (menit ke-0). Setelah itu mencit diinduksi dengan suspensi tinta 0,1ml/10g BB mencit melalui vena ekor, kemudian darah diambil setiap 4 menit sekali (pada menit ke 4, 8, 12,

dan 16) sebanyak 50 μ l kemudian dicampur dengan 4ml asam asetat 0,1%, lalu diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 660nm. Aktivitas fagositik ditentukan berdasarkan perbandingan antara kemiringan garis regresi linier antara 100%-Transmitan terhadap waktu pada kelompok uji dan kontrol.

Pengujian Indeks Organ Limfoid

Mencit dieuthanisasi dengan menggunakan eter selama beberapa menit hingga mencit kehilangan kesadaran. Mencit dibedah dan diambil organ-organ limfoidnya (hati, limpa, dan kelenjar timus). Organ-organ limfoid tersebut ditimbang dan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

b. Uji Respon Imun Spesifik

Uji hipersensitivitas tipe lambat (*Delayed Type Hypersensitivity*)

Pengujian terhadap respon imun seluler didasarkan pada respon reaksi hipersensitivitas tipe lambat yaitu munculnya respon imun yang lebih dari 24 jam setelah kontak dengan antigen. Semua kelompok diimunisasi dengan SRBC 1% sebanyak 0,1ml/ 10 g BB secara intraperitoneal (hari ke-0). Kemudian, kelompok I kontrol negatif plasebo, kelompok II kontrol positif suspensi herba Meniran, kelompok III, IV, V ekstrak Som Jawa dosis 1, 2, 3 mg/20 g BB mencit, kelompok VI, VII, VIII fraksi Som Jawa dosis 1, 2, 3 mg/20 g BB mencit. Perlakuan diberikan satu kali sehari selama 6 hari secara oral.

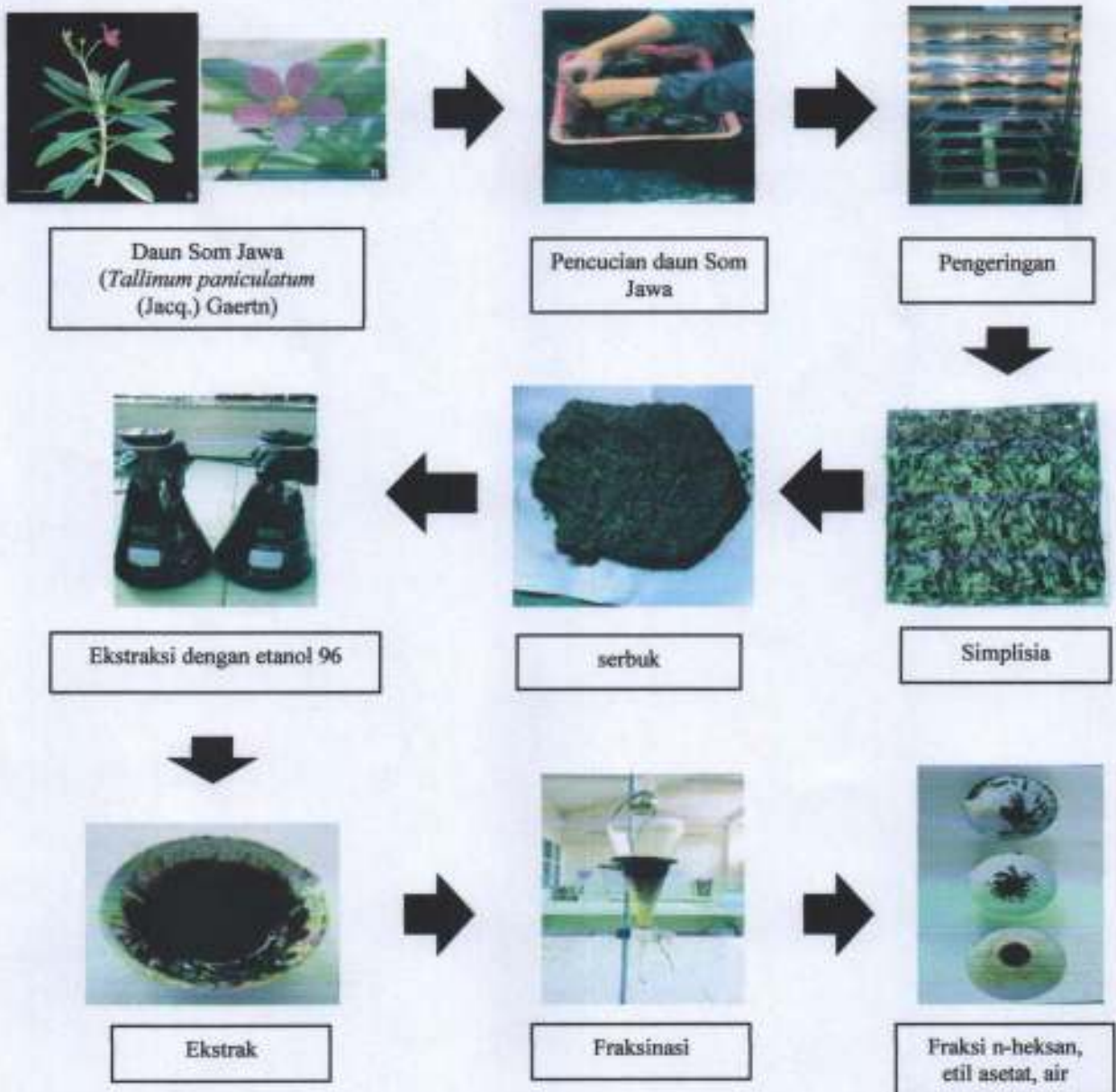
Pada hari ke-6 diukur ketebalan kaki kanan mencit dengan jangka sorong (T_0), kemudian mencit diimunisasi kembali dengan 0,05 mL SRBC 1% secara intradermal pada telapak kaki kanan. Pengukuran ketebalan kaki dilakukan kembali pada jam ke 24 dan 48 (T_{24} dan T_{48}). Respon Uji hipersensitivitas tipe lambat ditentukan berdasarkan perbandingan ketebalan kaki kelompok sediaan uji terhadap kelompok kontrol.

Uji titer antibodi total

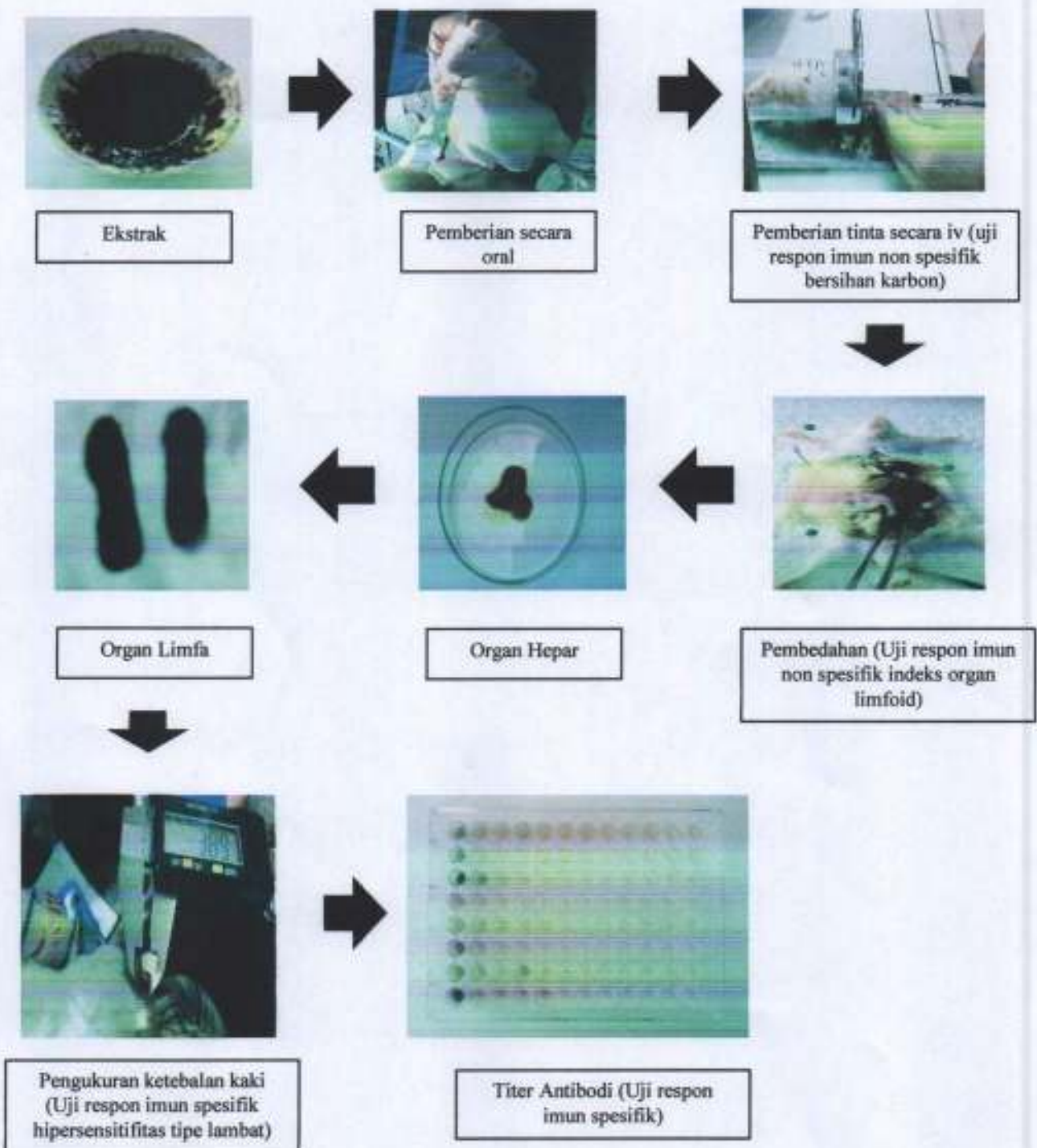
Hewan uji mencit dari 8 kelompok, diimunisasi dengan SRBC 1% sebanyak 0,1 mL/10 g BB secara intravena (hari ke 0). Mencit dari 8 kelompok diberikan sediaan uji secara oral sesuai dosis yang telah ditentukan, satu kali sehari selama 12 hari. Pada hari ke-5 dan hari ke-13 diambil darah mencit melalui vena ekor dan disentrifugasi untuk mendapatkan serum. Nilai

hemaglutinasi pada hari ke-5 dinyatakan sebagai titer antibodi primer. Mencit selanjutnya diimunisasi kembali dengan SRBC 1 % sebanyak 0,1 mL/10 g BB secara intra vena pada hari ke-12 dan dibiarkan selama 24 jam. Pada hari ke-13, mencit diambil darah untuk mendapatkan serum dan kembali ditentukan titer antibodi dengan teknik hemaglutinasi, nilai hemaglutinasi ini dinyatakan sebagai titer antibodi sekunder.

Berikut ini adalah gambar proses ekstraksi, fraksinasi dan uji imunomodulator daun Som Jawa.



Gambar 1. Proses ekstraksi dan fraksinasi daun Som Jawa (*Tallinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn)



Gambar 2. Uji Imunomodulator Daun Som Jawa (*Tallinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn)

4. Hasil

Hasil rendemen yang diperoleh saat ekstraksi dengan etanol 96% sebagai berikut:

Daun basah : 24 kg

Daun kering : 1600 gram

Ekstrak kental : 200,98 gram

Rendemen ekstrak : $\frac{200,98}{1600} \times 100\% = 12,58\%$

Selanjutnya, ekstrak kental yang diperoleh dilakukan fraksinasi dengan etil aetat dengan tujuan untuk menarik senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang diduga dapat berefek sebagai imunomodulator. Hasil rendemen yang diperoleh setelah difraksinasi dengan etil aetat sebagai berikut:

Fraksi etil aetat : 22,35 gram

Rendemen fraksi : $(22,35 \text{ g}/200,98 \text{ g}) \times 100\% = 11,10\%$

Uji pendahuluan dimulai dengan melakukan skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa-senyawa yang ada baik di dalam ekstrak etanol maupun fraksi etil aetat Som Jawa yang diduga berefek imunomodulator. Skrining fitokimia meliputi uji fenolik, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Apabila hasilnya positif maka dilanjutkan uji penegasan menggunakan KLT untuk memastikan benar terdapat zat yang positif saat uji skrining fitokimia. Hasil yang diperoleh baik skrining fitokimia maupun uji penegasan menunjukkan baik ekstrak maupun fraksi daun Som Jawa mengandung metabolit sekunder flavonoid, saponin, dan triterpenoid/steroid.

Ekstrak etanol dan fraksi etil aetat yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan uji imunomodulator baik non spesifik maupun spesifik. Uji imunomodulator non spesifik dilihat dengan uji bersihan karbon yang diamati dari nilai transmitan. Nilai transmitan yang diperoleh dari menit ke 0 sampai dengan 16 dapat dilihat pada tabel 1.

Sedangkan aktivitas fagositik ditentukan berdasarkan perbandingan antara kemiringan garis regresi linier antara 100%-Transmitan terhadap waktu pada kelompok uji dan kontrol. Nilai kemiringan garis regresi linier (K) kelompok kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak som jawa dosis 1, 2 dan 3 mg/20gBB mencit dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Rata-rata Nilai Transmittan (%) menit ke 0 sampai dengan menit ke 16 semua kelompok perlakuan

Kelompok	menit ke-				
	0 (%)	4(%)	8(%)	12(%)	16(%)
Suspensi Meniran (Kontrol +)	43,62	45,06	49,48	47,72	46,88
CMC Na 0,5% (Kontrol -)	55,04	55,9	57,92	57,10	55,98
Ekstrak Som Jawa 1 mg/20 gbb mencit	45,20	49,82	51,86	50,26	48,76
Ekstrak Som Jawa 2 mg/20 gbb mencit	46,74	47,5	49,12	48,16	47,78
Ekstrak Som Jawa 3 mg/20 gbb mencit	41,00	42,14	46,46	44,40	43,80
Fraksi Som Jawa 1 mg/20 gbb mencit	40,27	44,42	49,51	55,70	46,71
Fraksi Som Jawa 2 mg/20 gbb mencit	46,19	49,61	62,77	57,77	59,78
Fraksi Som Jawa 3 mg/20 gbb mencit	53,89	52,81	66,53	61,38	69,27

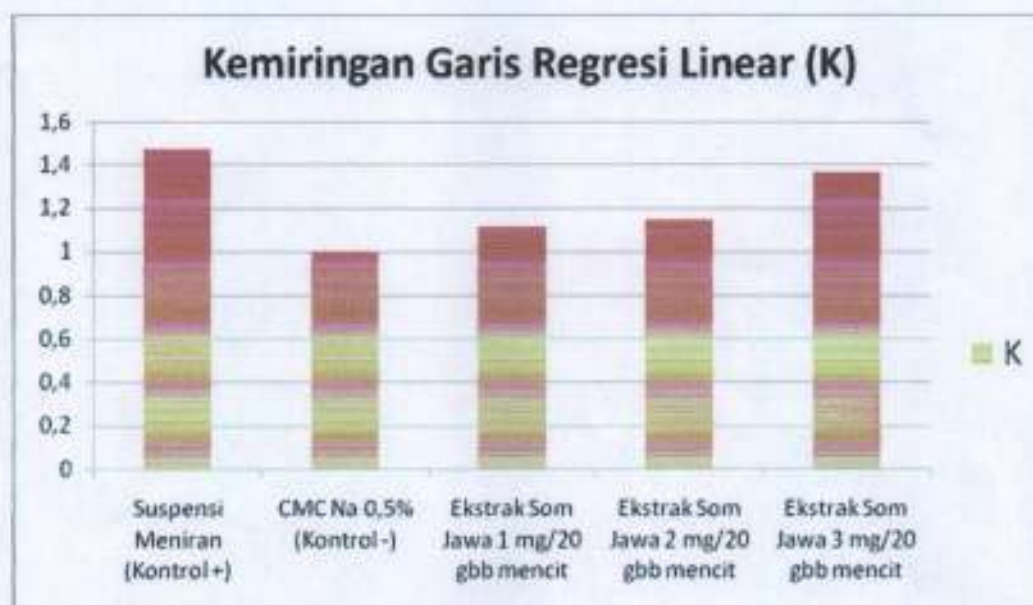
Nilai kemiringan garis regresi linier (K) menunjukkan besaran indeks fagositik. Nilai rata-rata indeks fagositosis menunjukkan aktivitas fagositosis sel-sel fagositik terhadap partikel karbon sebagai antigen akibat pengaruh pemberian ekstrak etanol dan fraksi etil asetat Som Jawa. Jika nilai rata-rata indeks fagositosis lebih besar dari satu (>1) berarti menunjukkan zat uji mempunyai kemampuan imunostimulan (Kresno, 1996; Wirawan, 1996). Aktivitas imunomodulator bahan uji diklasifikasikan berdasarkan indeks fagositosisnya, apabila nilai indeks fagositosisnya ($k < 1,2$) berarti berefek imunostimulan lemah, k antara 1,3-1,5 berarti memiliki daya imunostimulan sedang dan jika $k > 1,5$ berarti memiliki daya imunostimulan kuat (Wagner, 1989).

Berdasarkan tabel 2, terlihat bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat Som Jawa terbukti mempunyai kemampuan imunostimulan. Kemampuan imunostimulan fraksi etil asetat lebih kuat daripada ekstrak etanol. Semakin tinggi dosis ekstrak etanol daun Som Jawa maka kemampuan imunostimulan semakin meningkat yaitu dari lemah menjadi sedang. Demikian pula, semakin tinggi dosis fraksi etil asetat daun Som Jawa maka kemampuan imunostimulan juga semakin meningkat yaitu dari sedang menjadi kuat. Bahkan kemampuan imunostimulan fraksi etil asetat

daun Som Jawa lebih kuat dibandingkan dengan kontrol positif sediaan fitofarmaka Meniran. Gambaran indeks fagositosis semua kelompok dapat dilihat pada gambar 3.

Tabel 2. Nilai kemiringan garis regresi linier (K) Semua Kelompok

Kelompok	K	Keterangan
Suspensi Meniran (Kontrol +)	1,47	Sedang
CMC Na 0,5% (Kontrol -)	1	-
Ekstrak Som Jawa 1 mg/20 gbb mencit	1,11	Lemah
Ekstrak Som Jawa 2 mg/20 gbb mencit	1,14	Lemah
Ekstrak Som Jawa 3 mg/20 gbb mencit	1,36	Sedang
Fraksi Som Jawa 1 mg/20 gbb mencit	1,34	Sedang
Fraksi Som Jawa 2 mg/20 gbb mencit	1,62	Kuat
Fraksi Som Jawa 3 mg/20 gbb mencit	1,72	Kuat



Gambar 3. Kemiringan garis regresi linear/indeks fagositosis (K) semua kelompok

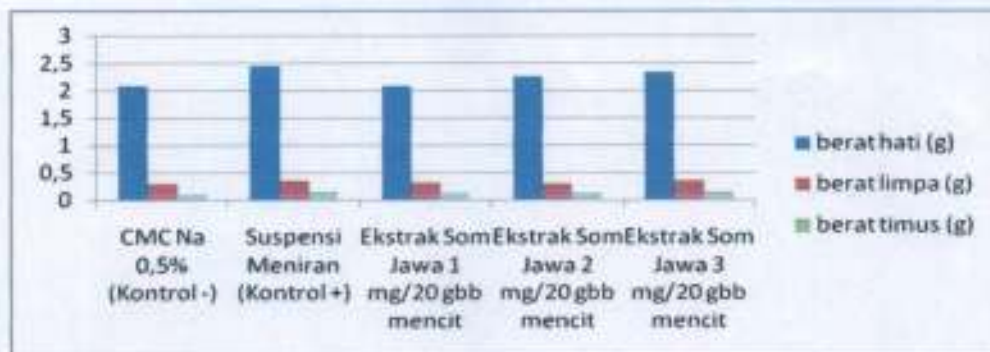
Selanjutnya dilakukan pengujian indeks organ limfoid. Cara yang dilakukan mencit dibedah dan diambil organ-organ limfoidnya (hati, limpa, dan kelenjar timus). Organ-organ limfoid

tersebut ditimbang dan dibandingkan dengan kelompok kontrol serta dihitung indeks organnya. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 3 dan 4.

Limfa sebagai organ limfoid sekunder mengandung sel limfosit B dan limfosit T yang berperan pada proses respon imun spesifik. Selain itu, pada limfa juga terdapat sel dendritik dan makrofag yang berperan sebagai APC (*Antigen Presenting Cell*) yang berfungsi menyajikan antigen kepada sel limfoid (Wirawan, 1996). Peningkatan sel-sel imun tersebut berkorelasi dengan bobot limfa seperti yang terlihat pada tabel 8 dan 9. Kenaikan bobot limfa relatif ini menunjukkan adanya efek ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun Som Jawa terhadap aktivitas imunostimulan.

Tabel 3. Rata-rata Data Berat Organ-organ Limfoid Semua Kelompok

Kelompok	berat hati (g)	berat limpa (g)	berat timus (g)
CMC Na 0,5% (Kontrol -)	2,09214	0,306575	0,1224
Suspensi Meniran (Kontrol +)	2,46548	0,36956	0,1608
Ekstrak Som Jawa 1 mg/20 gbb mencit	2,10076	0,32834	0,12956
Ekstrak Som Jawa 2 mg/20 gbb mencit	2,2733	0,3159	0,13416
Ekstrak Som Jawa 3 mg/20 gbb mencit	2,35346	0,3573	0,14804
Fraksi Som Jawa 1 mg/20 gbb mencit	2,48674	0,32534	0,15624
Fraksi Som Jawa 2 mg/20 gbb mencit	2,44658	0,33862	0,1663
Fraksi Som Jawa 3 mg/20 gbb mencit	2,43838	0,3415	0,15928



Gambar 4. Berat organ limfoid mencit semua kelompok

Tabel 4. Rata-rata Indeks Organ Semua Kelompok

Kelompok	indeks organ hati (%)	indeks organ limpa (%)	indeks organ timus (%)
CMC Na 0,5% (Kontrol -)	5,26	0,72	0,28
Suspensi Meniran (Kontrol +)	5,69	1,00	0,41
Ekstrak Som Jawa 1 mg/20 gbb mencit	5,40	0,84	0,33
Ekstrak Som Jawa 2 mg/20 gbb mencit	5,42	0,76	0,32
Ekstrak Som Jawa 3 mg/20 gbb mencit	5,56	0,84	0,35
Fraksi Som Jawa 1 mg/20 gbb mencit	6,08	0,80	0,38
Fraksi Som Jawa 2 mg/20 gbb mencit	5,92	0,82	0,40
Fraksi Som Jawa 3 mg/20 gbb mencit	6,30	0,88	0,41



Gambar 5. Indeks organ limfoid semua kelompok

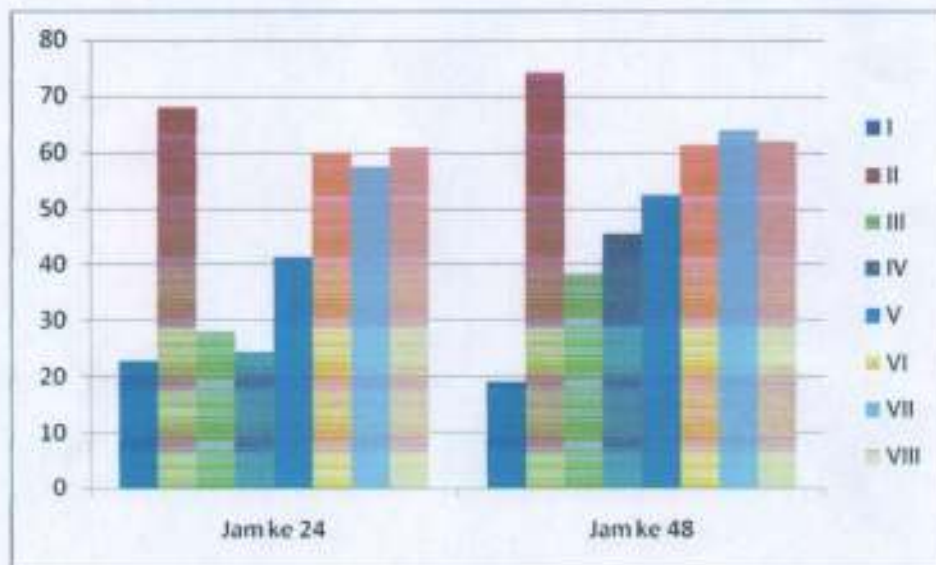
Pengujian imunomodulator spesifik juga dilakukan guna melihat respon imun didapat (*acquired*) yang timbul terhadap antigen tertentu. Sistem imun spesifik mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Metode yang digunakan adalah metode hipersensitifitas tipe lambat (*Delayed Type Hypersensitivity*), dan metode titer antibodi.

Pengujian terhadap respon imun seluler didasarkan pada respon reaksi hipersensitivitas tipe lambat yaitu munculnya respon imun yang lebih dari 24 jam setelah kontak dengan antigen. Penggunaan sel darah merah domba (SDMD) sebagai agen kimia pensensitisasi dikarenakan kombinasi dengan protein kulit memenuhi syarat sebagai antigen saat digunakan untuk mendapatkan reaksi hipersensitivitas kontak dengan tikus (Kannan, *et al.*, 2007).

Pengujian reaksi hipersensitivitas tipe lambat dengan mengukur perubahan volume kaki diamati dari sebelum penyuntikan antigen dan jam ke 24 dan 48 setelah penyuntikan antigen dan menghitung persentase perubahan kaki. Berdasarkan teori reaksi hipersensitivitas tipe lambat (tipe IV), peningkatan volume kaki tidak terjadi selama 6-12 jam, dan mencapai intensitas maksimal sesudah 24-48 jam (Bellanti, 1993). Hasil pengukuran volume kaki sebelum, dan sesudah penyuntikan antigen dapat dilihat pada tabel 4 dan gambar 6.

Tabel 4. Hasil pengukuran dan persentase perubahan tebal kaki mencit rata-rata sebelum dan sesudah pemberian antigen

Kelompok	Tebal kaki sebelum tantangan	Jam ke 24		Jam ke 48	
		Tebal (mm)	%	Tebal (mm)	%
I	0,19	0,23	22,79	0,23	18,87
II	0,20	0,33	68,00	0,35	74,27
III	0,22	0,28	27,89	0,31	38,35
IV	0,21	0,27	24,22	0,31	45,44
V	0,23	0,32	41,24	0,34	52,29
VI	0,23	0,36	59,95	0,36	61,28
VII	0,22	0,34	57,59	0,36	64,02
VIII	0,23	0,37	60,82	0,37	61,95



Gambar 6. Persentase rata-rata perubahan tebal kaki pada mencit yang disuntik sel darah merah domba

Tabel 4 dan gambar 6 menunjukkan terjadinya peningkatan volume kaki mencit setelah disuntik oleh antigen yang berasal dari sel darah merah domba. Peningkatan volume kaki mencit menandakan proses peningkatan imunitas dimulai. Besarnya persentase perubahan tebal kaki mencit antara kelompok senyawa uji dan kontrol positif lebih besar daripada kontrol negatif. Namun persentase perubahan antara kelompok ekstrak etanol dan fraksi etil asetat Som Jawa lebih rendah daripada kontrol positif sediaan fitofarmaka Meniran. Sedangkan kelompok fraksi etil asetat Som Jawa mempunyai presentase perubahan tebal kaki yang lebih besar daripada ekstrak etanol.

Respon imun spesifik juga dilakukan dengan metode titer antibodi. Titer antibody bertujuan untuk melihat respon imunitas humoral. Imunitas humoral dimediasi oleh antibody. Antibody berfungsi sebagai efektor dari respon humoral dengan cara mengikat dan menetralisasi antigen, atau dengan cara memfasilitasi eliminasi antigen tersebut agar dapat dihancurkan oleh sel fagosit (Dashputre and Naikwade, 2010). Uji hemaglutinasi antibody (HA) dilakukan untuk mengetahui efektivitas pemberian ekstrak etanol dan fraksi etil asetat Som Jawa terhadap respon imunitas humoral. Data titer antibody semua kelompok dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji titer antibody semua kelompok perlakuan

Kelompok	Titer antibody
I. Kontrol negatif	1 : 4
II. Kontrol positif	1 : 16
III. Ekstrak Som Jawa 1	1 : 56
IV. Ekstrak Som Jawa 2	1 : 128
V. Ekstrak Som Jawa 3	1 : 256
VI. Fraksi Som Jawa 1	1 : 48
VII. Fraksi Som Jawa 2	1 : 256
VIII. Fraksi Som Jawa 3	1 : 576

Berdasarkan tabel 5, semua kelompok perlakuan senyawa uji mempunyai kemampuan dalam meningkatkan respon humoral terhadap pengikatan antigen lebih besar daripada kontrol negatif. Namun kelompok ekstrak etanol dan fraksi etil asetat Som Jawa mempunyai kemampuan dalam meningkatkan respon humoral lebih tinggi daripada kontrol negatif. Kemampuan peningkatan respon humoral ekstrak dan fraksi Som Jawa lebih baik daripada kontrol positif, dan kemampuan fraksi Som Jawa lebih baik daripada ekstrak etanol Som Jawa. Semakin meningkatnya dosis baik ekstrak maupun fraksi Som Jawa maka semakin meningkat pula respon humoral yang dihasilkan.

Oleh karena itu, berdasarkan hasil uji respon imun baik non spesifik maupun spesifik membuktikan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat Som Jawa mempunyai efek sebagai imunostimulan dengan dosis efektif sebesar 1 mg/20 gBB mencit. Kemampuan imunostimulan fraksi etil asetat lebih kuat daripada ekstrak etanol, karena kandungan flavonoid yang diduga mempunyai efek imunostimulan, lebih banyak terdapat pada fraksi etil asetat daripada ekstrak etanol. Flavonoid terbukti dapat meningkatkan sistem imun dengan cara memicu proliferasi limfosit, meningkatkan jumlah sel T dan meningkatkan aktivitas IL-2 (Jiao *et al.*, 1999).

5. Daftar Pustaka

- Bellanti, A.J. 1993. *Imunologi III*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press
- Bratawijaya, K., 2006. *Imunologi Dasar*. Ed.7. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Cannell, R.J.P., 1998, *How to approach the isolation of a natural product, Methods in Biotechnology*, Natural Products Isolation, Humana, Totowa.
- Dashputre, N.L., Naikwade, N.S. 2010. Immunomodulatory Activity of *Abutilon indicum* linn on Albino Mice. *International Journal of Pharmaca Sciences and Research (IJPSR)*. Vol 1 (3): 178-184
- Jawetz. E., Melnick. L.J. and Adelberg. A.E. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. translated by Edi Nugroho. Maulani. F.R. Edisi 20. EGC. Jakarta.
- Grotewold, E. 2006. *The Science of Flavonoid*. United States of America: Springer.
- Gupta, P.K., Siddarth P., and Srikanth. 2015. *Research and Review: Journal of Medicinal Chemistry. Tulsi: An Elixir For Human Life*. Volume 4 Issue 1 January-March.
- Jiao Y. ,Wen J. ,Yux. 1999. *Influence of Flavonoid of Astragalus membranaceus Stem and Leaves on the Function of Cell Mediated Immunity in Mice* : Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine. Heilongjian University. 19 (6) : 356-358
- Kannan, Singh, Kumar, Jegatheswari, and Subburayalu. 2007. Studies on Immuno-bioactivities of *Nyctanthes arbortristis* (Oleaceae). *African Journal of Microbiology Research*, 1 (6). 088-091
- Katzung. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik Buku 2*. Edisi 8. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.

- Kresno, 2010, *Diagnosis dan Prosedur Lab*. Edisi V. Jakarta : FKUI
- Kresno, 20001, *Diagnosis dan Prosedur Lab*. Edisi V. Jakarta : FKUI
- Kusmardi, K. S. , dan Triana, E. E. 2007. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Johar (Cassia siamea Lamk.) Terhadap Peningkatan Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag*. Laporan Penelitian. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 15, Penerbit ITB, Bandung.
- Nurjanah, L.I., dan Asadaturun A. 2011. *Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (solen s pp.)*. Bogor: Ilmu Kelautan. Vol. 16 (3) 119-124. ISSN 0853-7291.
- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S., 1988, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, diterjemahkan oleh Hadioetomo, R. S., Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Rahmi, Eriani, K. & Widyasari, 2011. Potency of Java Ginseng (*Talinum paniculatum* Gaertn.) Root Extract on Quality and Viability of Mice Sperm. *Jurnal natural*, 11:7-10.
- Redha, A. 2010. *Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis*. *Jurnal Belian* Vol. 9 No. 2.
- Rusli dan Towaha, 2010, Som Jawa (*Talinum paniculatum*) Ginseng Indonesia Penyembuh Berbagai Penyakit. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman*, 16 (2)
- Spelman K, Burns J, Nichols D, Winters N, Ottersberg S. , dan Tenborg M. 2006. Modulation of Cytokine Expression by Traditional Medicines : A Review of Herbal Immunomodulator, *Alternative Medicine Review*, 11 (2): 128-50
- Suharsanti, R., dan Wibowo, FX. S. 2014. Standarisasi Ekstrak Daun Som Jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq) Gaetrn Untuk Menjamin Mutu Penggunaan Sebagai Obat Herbal. *Laporan Akhir Penelitian Dosen Pemula*. Semarang: STIFAR "Yayasan Pharmasi"
- Sumastuti, R. 1999. Efek Anti Radang Infus Daun dan Akar Som Jawa (*T. paniculatum*) pada Tikus Putih in vitro. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, 5:15-17.
- Thanamool, C., Papirom, P., Chanlun, S., Kupittayanant, S. 2013. *Talinum paniculatum* (Jacq.) Gertn: A Medicinal Plant With Potential Estrogenic Activity In Ovariectomized Rats. *Int J Pharm Pharm Sci*. 5(2): 478-485
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi ke-5 Diterjemahkan oleh Noerono, S. Yogyakarta: UGM

- Vidak, M., Damjana R. and Radovan K. 2015. *Review Effect of Flavonoids From Food and Dietary Supplements On Glial and Glioblastoma Multiforme Cells*. *Molecules* 2015, 20, 19406-19432. ISSN 1420-3049.
- Wagner, H. (1989) : Immunostimulans from Higher Plants (recent advances), in *Biologically Active Natural Products*, K. Hostettman and P. J. Lea (Eds), Clarendon Press, Oxford, 127-141.
- Winarti, S. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Wirawan, S dan Erwin, S. 1996. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Sederhana*. Edisi II. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.