

EFEKTIFITAS IMUNOSTIMULAN DARI EKSTRAK ETANOL DAUN BENALU KOPI (*Loranthus ferrugineus Roxb*) PADA TIKUS JANTAN DENGAN METODE TITER ANTIBODI

Novandi Purba¹, Lasma Novita Sari², Yanna Rotua Sihombing³

Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam

e-mail: gultomvandi6196@gmail.com

DOI : <https://doi.org/10.35451/jfm.v2i2.372>

Abstract:

*The research in this paper aims to determine the effectiveness of immunostimulants from ethanol extract of coffee parasite leaves (*Loranthus ferrugineus Roxb*) with four variants of doses of 50mg / kgBB, 100mg / kgBB, 200mg / kgBB, 400mg / kgBB. This study used 18 male white rats with 200 gram BB which were divided into 6 treatment groups. Rats were injected with 0.1ml SDMS 1% for 7 consecutive days intraperitoneal, then on the 7th day each blood sample was taken through veins in the tail, CMC Na 0.5% suspension, and Levamisole suspension 50mg / kgBB as a positive control was administered orally on the 8th day. Then blood samples were collected in a micro tube and then 1900rpm was centrifuged at a temperature of 4oC for 10 minutes. The results of the study of ethanol extract of coffee parasite leaves proved effective as immunostimulants because they have a value close to positive control, starting from a dose of 200mg / kgBB to 400mg / kgBB.*

Keywords: *Benalu coffea leaf (*Loranthus ferrugineus Roxb*), Flavonoid, Titer Antibodi.*

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai salah satu negara dengan keanekaragaman hayati yang sangat melimpah dan merupakan peluang bagi para peneliti khususnya yang bergerak dalam bidang eksplorasi, inventarisasi dan perkembangan obat hayati dan nabati. Untuk menjelajah dan mengeskplorasi kekayaan tersebut dalam rangka menemukan senyawa baru, spesies baru bahkan senyawa bioaktif baru diantaranya diharapkan sebagai obat bagi beberapa penyakit yang sampai saat ini belum ditemukan obatnya (Aldi,2014).

Salah satu Provinsi penghasil kopi terbesar di Indonesia adalah Provinsi Aceh, yang tepatnya di daerah dataran tinggi gayo, ada berbagai jenis tanaman kopi

yang tumbuh di daerah tersebut, selama ini pemanfaatan tanaman kopi secara komersial hanya terfokus pada pengolahan biji kopi sebagai minuman seduh maupun bahan tambahan makanan. Benalu kopi merupakan tumbuhan parasit pada inang kopi yang dapat merusak tanaman inangnya. Masyarakat dataran tinggi gayo memanfaatkan benalu kopi sebagai obat tradisional untuk penyembuhan berbagai penyakit seperti kanker dengan cara merebus daun benalu kopi yang sudah kering dan meminum hasil rebusan tersebut (Raja,2008).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengkaji pemanfaatan ini secara ilmiah. Artanti (2003) telah melakukan uji aktivitas antioksidan dan bioaktivitas

terhadap ekstrak air dan ekstrak etanol daun benalu kopi (*Loranthus ferrugineus Roxb.*) yang tumbuh pada inang pohon nangka (*Artocarpus heterophyllus*). Ekstrak air ekstrak etanol daun benalu kopi (*Loranthus ferrugineus Roxb.*) aktif sebagai antioksidan dengan nilai IC₅₀ 23,08pg/mL dan 21,56 pg/mL, untuk ekstrak etanol baik daun maupun ranting memberikan IC₅₀ di atas 100pg/mL (tidak aktif sebagai antioksidan terhadap DPPH). Uji aktivitas sistem imun dapat dilakukan dengan berbagai metode yaitu dengan melihat aktivitas fagositosis menggunakan metode bersihan karbon (carbon clearance), respon hipersensitivitas tipe lambat, dan uji hemaglutinasi titer antibodi (Seifu,2012).

Berdasarkan pertimbangan di atas, penulis merasa penting dan perlu untuk melakukan pengujian efek imunostimulator dari ekstrak etanol dan benalu kopi (*Loranthus ferrugineus Roxb.*) dengan metode titer antibodi untuk melihat respon imun spesifik pada tikus jantan. Maka, diperlukan penelitian ilmiah seperti penelitian dan pengujian imunostimulator di bidang farmakologi.

METODE

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan tikus jantan sebagai hewan percobaan untuk melihat efek imunostimulator ekstrak etanol daun benalu kopi (*Loranthus ferrugineus Roxb.*). Penelitian ini meliputi pengumpulan dan pengolahan bahan tumbuhan, pemeriksaan karakterisasi simplisia dan ekstrak, pembuatan ekstrak etanol daun benalu kopi (*Loranthus ferrugineus Roxb.*), pembuatan suspensi ekstrak etanol daun benalu kopi (*Loranthus ferrugineus Roxb.*), dan penyiapan hewan percobaan. Metode pengujian yang digunakan adalah hipersensitivitas tipe lambat dan uji analisa data.instrumen, prosedur pengumpulan data, dan analisis data yang dipaparkan dalam bentuk paragraf.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas laboratorium, aluminium foil, neraca listrik (Vibra), seperangkat alat destilasi penetapan kadar air, rotary evaporator, blender (National), mortir dan stamper, neraca hewan, spuit 1 ml (Terumo), oral sonde, pletismometer air raksa, centrifuge (Dynamic), microtube, microtitration plate, micropipette (Socorex), dan kertas saring.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun benalu kopi, karboksi metil selulosa (CMC), natrium klorida (NaCl), kalium klorida (KCl), dinatrium hidrogen fosfat, Stimuno, (Na₂HPO₄), kalium dihidrogen fosfat (KH₂PO₄), aqua bidestilasi, heparin, etanol 96%, toluen, kloroform dan air suling.

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak etanol dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 5 kg serbuk simplisia dimasukkan kedalam wadah kaca, lalu ditambahkan pelarut etanol sampai serbuk simplisia terendam, kemudian didiamkan selama 3 hari lalu ekstrak disaring, setelah itu ekstrak dimaserasi kembali dan setelah di skrining ditemukan ekstrak mengandung flavonoid, kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu sekitar 40°C, hasilnya diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 1979).

Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun benalu kopi (*Loranthus ferrugineus Roxb.*)

Dalam pengujian akan digunakan 4 variasi dosis yakni dosis 50, 100, 200, dan 400 mg/kgBB. Ditimbang 50 mg Ekstrak Etanol Daun benalu kopi (*Loranthus ferrugineus Roxb.*). Dimasukkan ke dalam lumpang, kemudian tuang sedikit demi

sedikit suspensi CMC Na 0,5% sambil digerus hingga homogen, setelah homogen dituangkan ke dalam labu tentukur 100 ml. Demikian dengan variasi dosis 100, 200, dan 400 mg/kgBB.

Penyiapan Kontrol, Suspensi Stimuno®, inokulum bakteri dan uji titer antibody

- a. Pembuatan Suspensi CMC Na 0,5%
Pembuatan suspensi CMC Na 0,5% dilakukan dengan cara sebagai berikut: sebanyak 0,5 gram CMC Na ditaburkan ke dalam lumpang yang berisi air panas sebanyak 20 ml. Didiamkan selama 15 menit, kemudian digerus hingga diperoleh massa yang transparan, diencerkan dengan sedikit air, kemudian dituang ke dalam labu tentukur 100 ml, ditambah air suling sampai batas tanda.
- b. Penyiapan suspensi levamisole
Pengambilan sampel tablet levamisole yaitu dengan cara timbang setara dan diserbukhaluskan tidak kurang dari 10 tablet. Serbuk yang telah dihaluskan tersebut kemudian ditimbang setara dengan lebih kurang 50 mg levamisole. Pembuatan suspensi levamisole dilakukan dengan cara sebagai berikut: ditimbang serbuk levamisole dan dimasukkan kedalam lumpang. Digerus serbuk kemudian ditambahkan suspensi CMC Na 0,5% secukupnya. Digerus hingga homogen dan dituangkan kedalam labu tentukur 25 ml, dan kemudian ditambahkan suspensi CMC Na 0,5% sampai batas tanda.
- c. Penyiapan Phosphate Buffered Saline (PBS)
Pembuatan PBS dilakukan dengan cara sebagai berikut: sebanyak 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,44 g Na₂HPO₄, 0,24 g KH₂PO₄, dilarutkan dalam 800 ml aqua bidestilasi, kemudian dicek pH dengan indikator pH hingga pH ± 7 dan dapat disesuaikan dengan penambahan HCl

atau NaOH, tambahkan aqua bidestilasi hingga 1 L (Rahmi, 2011).

- d. Uji Titer Antibodi
Tiap kelompok hewan percobaan diinjeksikan dengan 0,1 ml SDMS 1% dalam PBS sebagai antigen secara intraperitoneal pada hari ke-0. Perlakuan dimulai dari hari ke-0 dan diberikan satu kali sehari selama 7 hari. Pada hari ke-7, sampel darah masing-masing tikus diambil melalui pembuluh darah vena di bagian ekor. Caranya dengan modifikasi yaitu bagian ujung dari ekor tikus disayat dengan menggunakan silet kemudian darah yang keluar disedot dengan menggunakan spuit 1 ml, selanjutnya sampel darah dikumpulkan dalam tabung mikro (microtube), kemudian dilakukan pemusingan 1900 rpm dengan alat sentrifugasi pada suhu 4oC selama 10 menit dan diambil serumnya. Nilai titer antibodi ditentukan dengan teknik hemaglutinasi. 25 µl serum ditetaskan ke dalam sumur microtitration plate 96 lubang, ditambahkan PBS dan SDMS dengan volume yang sama, dan diencerkan dua kali lipat (1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1: 64; 1:128; 1:256; 1:512; 1:1024; 1:2048; 1:4096) kemudian diinkubasi pada suhu 37oC selama 1 jam dan diamati hemaglutinasi secara visual. Nilai titer antibodi ditentukan berdasarkan pengenceran terakhir di mana antibodi masih terdeteksi melalui hemaglutinasi yang terlihat secara visual. Nilai titer antibodi tersebut selanjutnya ditransformasikan dengan $[2\log(\text{titer})+1]$ (Marbun, 2018).

Hasil Dan Pembahasan

Pada penelitian ini, pengujian efek imunomodulator ekstrak etanol daun benalu kopi (*Loranthus ferrugineus* Roxb.) / EEBK dilakukan dengan metode respon metode titer antibodi yang digunakan

untuk mengetahui pengaruh daun benalu kopi (*Loranthus ferrugineus* Roxb.) terhadap respon imun spesifik humoral.

Pengujian dilakukan dengan cara menginduksi sel imun tikus dengan sel darah merah sapi (SDMS) secara intraperitonium pada hari ke-0. Pemberian SDMS 1% yang digunakan sebagai antigen pada tikus dimaksudkan untuk merangsang pembentukan antibodi spesifik. Injeksi ini dilakukan secara intraperitonium agar didapat reaksi respon imun yang cepat dan maksimum. Pada pembuatan SDMS 1% digunakan PBS (*Phosphate buffer saline*) *Buffered Saline*) sebagai larutan pencuci dan larutan pengencer. Pencucian SDMS bertujuan untuk memperoleh sel darah merah sapi yang murni artinya tidak dicemari oleh protein serum (Puri, 1993).

Pengukuran nilai titer antibodi dilakukan pada hari ke-7 dengan menggunakan metode hemaglutinasi. Hemaglutinasi adalah ikatan antara sel darah merah sebagai antigen dengan antibodi sehingga menimbulkan suatu

gumpalan yang dapat dilihat. Pada lingkungan dengan pH netral, sel darah merah bermuatan negatif sehingga akan terjadi aksi tolak menolak antar sel. Oleh karena itu sel darah merah yang digunakan disuspensikan dalam larutan penyangga dengan $Ph \pm 7$ (PBS) untuk menjaga agar sel darah merah tetap dalam kondisi pH netral, sehingga tetap bermuatan negatif. Hemaglutinasi terbentuk karena adanya ikatan silang antara sel darah merah dengan antibodi.

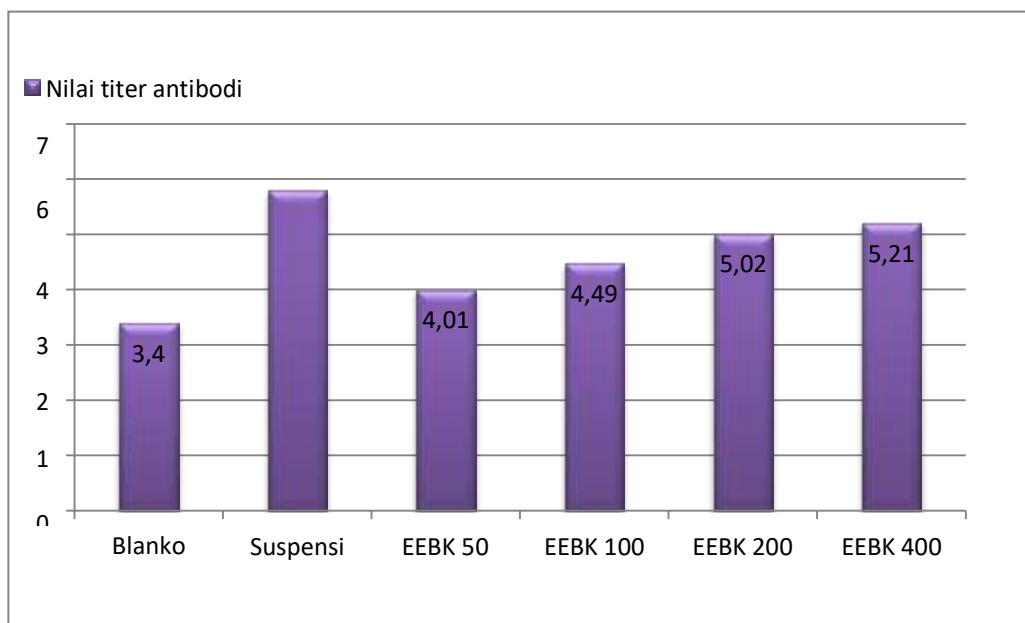
Antibodi yang mempunyai kemampuan lebih besar untuk berikatan dengan sel darah merah adalah IgM. IgM mempunyai ukuran yang besar dan valensi yang tinggi, sehingga dapat melawan rintangan elektrik dan membentuk ikatan silang dengan sel darah merah sehingga menyebabkan aglutinasi. Antibodi lainnya seperti IgG mempunyai ukuran dan valensi yang lebih kecil, sehingga kemampuannya melawan rintangan elektrik lebih lemah dibandingkan dengan IgM (Puri, et al., 1993). Data nilai titer antibodi dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Data nilai titer antibodi

No.	Perlakuan	Nilai titer antibody	
		Titer antibody	[2(Log titer)+1]
1	CMC Na 0,5%	16	3,40
2	Suspensi Levamisole 25 mg/kgBB	256	5,81
3	Suspensi EEBK 50 mg/kgBB	32	4,01
4	Suspensi EEBK 100 mg/kgBB	57,6	4,49
5	Suspensi EEBK 200 mg/kgBB	102,4	5,02
6	Suspensi EEBK 400 mg/kgBB	128	5,21

Hemaglutinasi terbentuk karena adanya ikatan silang antara sel darah merah dengan antibodi. Antibodi yang mempunyai kemampuan lebih besar untuk berikatan dengan sel darah merah adalah IgM. IgM mempunyai ukuran yang besar dan valensi yang tinggi, sehingga dapat melawan rintangan elektrik dan membentuk ikatan silang dengan sel darah

merah sehingga menyebabkan terjadinya aglutinasi. Antibodi lainnya seperti IgG mempunyai ukuran dan valensi yang lebih kecil, sehingga kemampuannya melawan rintangan elektrik lebih lemah dibandingkan dengan IgM. Data nilai titer antibodi dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini.



Gambar 1. EEBK 50,100, 200, 400 mg/kgBB

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Peningkatan dosis ekstrak etanol daun benalu kopi (*Loranthus ferrugineus Roxb.*) dapat meningkatkan nilai titer antibodi pada tikus jantan. Peningkatan dosis terbaik ekstrak etanol daun benalu kopi (*Loranthus ferrugineus Roxb.*) dapat

meningkatkan respon imun spesifik pada tikus jantan.

Saran

Untuk peneliti selanjutnya disarankan perlu melakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat apakah Ekstrak Etanol daun benalu kopi (*Loranthus ferrugineus Roxb.*) dapat diformulasikan sebagai sediaan farmasi (Herbal).

DAFTAR PUSTAKA

Buku:

Harborne, J.B. (1998). *Phytochemical Methods*. Third edition. United of Kingdom: University of Reading. Halaman 214.

Jurnal:

Artanti, N., Jamilah, dan Hartati, S.(2003). Laporan Teknis Sub Tolok Ukur Pengembangan Senyawa Potensial antikanker dari *Taxus sumatrana* dan Benalu, Puslit Kimia LIPI, Serpong.

Aldi, Rasyadi, Y., dan Handayani, D. (2014).Aktivitas Imunomodulator dari Ekstrak Etanol Meniran

(*Phyllanthus niruri* Linn.) terhadap Ayam Broiler. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis Fakultas Farmasi*. 1(1): 20-26.

Marbun, R. (2018). Test Of Immunomodulatory Effects From Ethanol Extract Herbs Binara (*Artemisia Vulgaris L.*) In Male Rats. *Asian Journal Pharmaceutical and Clinical research*. 11(1):246.

Marbun, R., Suwarso, E. and Yuandani, Y. (2018) "IMMUNOMODULATORY EFFECTS OF ETHANOL EXTRACT ARTEMISIA VULGARIS L. IN MALE RATS", *Asian Journal of*

Pharmaceutical and Clinical Research, 11(13), pp. 245-247. doi:10.22159/ajpcr.2018.v11s1.26619.

Baratawidjaja, K. (2012). *Imunologi Dasar*. Edisi ke IX. Yogyakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Halaman 418.

Puri, S., dan Bagchi, K. (1993). Free Radical and Antioxidant in Health and Disease. *Eastern Mediterranean Health Journal*. 4(2): 1979-249.

Raja L.L.(2008).Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Benalu Kopi (*Swietenia mahagoni* Jacq) terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih, *Skripsi*, Fakultas Farmasi USU.

Rahmi, T.F. (2011). *Gambaran Higiene dan Sanitasi Penyelenggaraan Makanan PT Nuansa Boga Sehatama Tahun 2011*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah: Jakarta. Halaman 37-39.

Seifu,D., Assefa, F. & Abay, S.M. (2012). Medicinal plants as antioxidant agent: understanding their mechanism of action and therapeutic efficacy. In Capasso,(ed). *Medicinal Plants as Antioxidant Agents: Understanding Their Mechanism of Action and Therapeutic Efficacy*. Pp. 97 – 145.

Oktianti, Dian, Nova,H.F., dan Agnes,B. (2015). Uji Aktivitas Immunostimulan Infusa Daun Cermay (*Phyllanthus acidus* L. Skeells) Pada Tikus Jantan Galur Sprague Dawley yang Diinduksi Sel Darah Merah Domba. *Jurnal*

Farmasi dan Obat Alam.2(3): 28-34.

Peraturan dan Undang-undang:

Depkes RI. (1979). *Materia Medika Indonesia*.Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 33, 167-170.