

JURNAL PENELITIAN FARMASI HERBAL	VOL. 1 NO. 2	EDITION: NOVEMBER 2018 – APRIL 2019
	http://ejournal.delihusada.ac.id/index.php/JPFH	
RECEIVED: 17 FEBRUARI 2019	REVISED: 21 MARET 2019	ACCEPTED: 25 APRIL 2019

UJI IMUNOMODULATOR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN WARU (*HIBISCUS TILIACEUS*) DENGAN METODE HIPERSENSITIVITAS TIPE LAMBAT

Yanna Rotua Sihombing, Debi Dinha Octora
Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam, Jalan Sudirman No. 38 Lubuk Pakam
email: yanna010192@gmail.com

Abstract

Immunomodulator is a compound that can increase the immune system. One of the plants that have immunomodulator's activity is Waru Leaf (Hibiscus tiliaceus). The purpose of this research was to test the effect of immunomodulator by extract of Waru Leaf ethanol on rat male. The activity of immunomodulator was determined by using digital plethysmometer by measuring the differences between the last leg swelling's volume and the first leg swelling's volume. The treatment group were divided into 5 groups. Each group consist of 5 rats CMC-Na 0,5% (negative control), Stimuno® 32,5 mg/kgBW (positive control), dose of EEDW 50, 100 and 200 mg/kgBW, and bacteria E.coli as antigen. The results showed that distribution of EEDW dose 200 mg/kgBW can give the effect of immunostimulant by swelling enhancement compared by CMC-Na 0,5 %. EEDW 200 mg/kgBW that have activity comparable with Stimuno® 32,5 mg/kgBW. Thus, it is concluded that of Waru Leaf extract has immunomodulator effects on delayed-type hypersensitivity response of rat male.

Keywords: immunomodulatory, hypersensitivity response, waru leaf

1. PENDAHULUAN

Menurut *World Health Organization* (WHO) penggunaan obat tradisional telah lama digunakan di dunia, sekitar 65% dari penduduk Negara majudan 80% dari penduduk negara berkembang telah menggunakan obat herbal. Obat herbal atau *herbal medicine* merupakan bahan baku sediaan yang berasal dari tumbuhan yang memiliki efek terapi atau efek lain yang bermanfaat bagi kesehatan manusia, sediaan obat herbal diproduksi melalui proses ekstraksi, faksinasi atau proses biologi berisi ekspisien atau bahan inert sebagai bahan inert sebagai bahan aktif. Faktor pendorong terjadinya peningkatan penggunaan obat herbal yaitu:

meningkatnya harapan hidup pada saat prevalensi penyakit kronik meningkat, adanya kegagalan penggunaan obat modern untuk penyakit degenerative dan kanker, serta semakin meluasnya akses informasi obat herbal diseluruh dunia.

Dengan demikian konsep *back to nature* telah dibuktikan adanya rekomendasi untuk menggunakan obat herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat dan pencegahan penyakit terutama penyakit yang disebabkan mikroorganisme khusus seperti penurunan sistem imun dalam tubuh seperti dermatitis (alergi kulit), alergi, asma dan hay fever. Indonesia merupakan negara dengan sumberdaya alam yang

JURNAL PENELITIAN FARMASI HERBAL	VOL. 1 NO. 2	EDITION: NOVEMBER 2018 – APRIL 2019
	http://ejournal.delihusada.ac.id/index.php/JPFH	
RECEIVED: 17 FEBRUARI 2019	REVISED: 21 MARET 2019	ACCEPTED: 25 APRIL 2019

memiliki keanekaragaman hayati nomor dua di dunia setelah Brazil. Indonesia memiliki sekitar 30.000 jenis tumbuhan yang telah diidentifikasi dan 950 jenis diantaranya diketahui memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat, suplemen makanan, kosmetik dan farmasi nutrisi (*nutraceutical*). Lebih kurang 180 jenis tumbuhan telah digunakan oleh industri di bidang obat tradisional.

Obat tradisional Indonesia merupakan warisan budaya bangsa yang perlu dilestarikan, diteliti dan dikembangkan. Penelitian obat tradisional Indonesia mencakup penelitian obat herbal tunggal maupun dalam bentuk ramuan. Jenis penelitian yang telah dilakukan selama ini meliputi penelitian budidaya tanaman obat, analisis kandungan kimia, toksisitas, farmakodinamik, formulasi, dan uji klinik (Dewoto, 2007). Prinsip pemakaian obat tradisional pada umumnya bersifat promotif yakni untuk penyegaran badan, preventif untuk pencegahan penyakit, kuratif untuk penyembuhan penyakit, dan paliatif untuk mengurangi penderitaan pasien setelah penyakitnya tidak mungkin disembuhkan (Katno, 2008).

Suatu bahan yang dapat memperbaiki ketidakseimbangan sistem imun disebut imunomodulator (Baratawidjaja, 2012). Sistem ini berperan melindungi tubuh dari benda-benda asing yang masuk sehingga fungsi tubuh tidak terganggu. Sistem kekebalan tubuh untuk mencegah suatu penyakit, terjadi karena adanya infeksi dapat diperoleh secara alami. Namun sistem kekebalan yang alami saja belum mencukupi, sehingga sistem kekebalan tubuh dibuat

perlu juga oleh tubuh kita (Aldi, dkk., 2014).

Suatu zat yang berperan sebagai penambah atau peningkatan timun dapat diperoleh dengan penggunaan herbal yang berkhasiat sebagai imunostimulan. Salah satu herbal yang digunakan sebagai imunostimulan adalah ekstrak etanol daun waru (*Hibiscus tiliaceus*) yang menurut peneliti sebelumnya berpotensi sebagai imunomodulator dengan aktivitas antioksidan yang tinggi.

Beberapa penelitian daun waru menyebutkan bahwa daun waru memiliki kandungan kimia seperti saponin, flavonoid dan polifenol (Dalimartha, 2000). Ekstrak alam daun waru mengandung flavonoid, tanin, dan fenol (Achmad et al., 2018).

Uji aktivitas sistem imun dapat dilakukan dengan berbagai metode yaitu dengan melihat aktivitas fagositosis menggunakan metode bersihkan karbon (*carbon clearance*), respon hipersensitivitas tipe lambat, dan uji hemaglutinasi titer antibodi (Shukla, dkk., 2009). Metode hipersensitivitas tipe lambat merupakan suatu metode yang sederhana untuk pengujian efek imunostimulator.

Berdasarkan pertimbangan di atas, penulis merasa penting dan perlu untuk melakukan pengujian efek imunostimulator dari ekstrak etanol daun waru (*Hibiscus tiliaceus*) pada tikus jantan yang akan dilakukan di Lab Farmakologi Institut Kesehatan MEDISTRA Lubuk Pakam karena sudah memiliki alat dan bahan yang lengkap. Maka, diperlukan penelitian ilmiah seperti penelitian dan pengujian imunostimulator di bidang farmakologi.

2. METODE PENELITIAN

JURNAL PENELITIAN FARMASI HERBAL	VOL. 1 NO. 2	EDITION: NOVEMBER 2018 – APRIL 2019
	http://ejournal.delihusada.ac.id/index.php/JPFH	
RECEIVED: 17 FEBRUARI 2019	REVISED: 21 MARET 2019	ACCEPTED: 25 APRIL 2019

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan tikus jantan sebagai hewan percobaan untuk melihat efek imunostimulator daun waru (*Hibiscus tiliaceus*) pada tikus jantan.

Pengujian imunomodulator yang digunakan adalah hipersensitivitas tipe lambat dan uji analisa data. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biologi, laboratorium Farmakologi di Fakultas Farmasi Institut Kesehatan MEDISTRA Lubuk pakam.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas laboratorium, aluminium foil, neraca listrik (Vibra), seperangkat alat destilasi penetap, kawat air, rotary evaporator, blender (National), mortar dan stamper, neraca hewan, spuit 1 ml (Terumo), oral sonde, plethysmometer air raksa, velocity 18R refrigerated centrifuge (Dynamic), microtube, microtitration plate, micropipette (Socorex), dan kertas saring.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun waru, karboksimetil selulosa (CMC), inokulum *e.coli*, natrium klorida (NaCl), kalium klorida (KCl), dinatrium hidrogen fosfat, Stimuno (Na_2HPO_4), kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4), aqua bidestilasi, heparin, etanol 96%, toluen, kloroform dan air suling.

Pengambilan Sampel

Pengumpulan sampel dilakukan secara purposif yaitu tanpa membandingkan dengan tumbuhan yang sama dari daerah lain. Bagian yang digunakan

adalah ekstrak etanoldan waru (*Hibiscus tiliaceus*). Pengambilan sampel dilakukan di tebing tinggi.

Pembuatan Simplisia

Daun waru (*Hibiscus tiliaceus*) dibersihkan dari pengotor andeng ancaramencuci di bawah air mengalir hingga bersih, ditiriskan lalu ditimbang sebagai berat basah, selanjutnya dikeringkan di lemari pengering ($\pm 50^\circ\text{C}$). Setelah kering, daun waru ditimbang kembali lalu diserbuk hingga halus. Serbuk simplisia dimasukkan ke dalam wadah plastik tertutup, dan disimpan pada suhu kamar.

Pembuatan Ekstrak Etanol

Sebanyak 1 kg serbuk simplisia daun waru dimasukkan ke dalam bejana tertutup, ditambahkan 7,5 liter etanol 96% lalu bejana ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk. Kemudian disaring dan ampas dibilas kembali dengan etanol 96% hingga diperoleh 100 bagian. Maserat ditampung pada botol gelap, dibiarkan di tempat sejuk dan terlindung dari cahaya selama 2 hari kemudian disaring. Kemudian ekstrak dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator. Masing-masing ekstrak dikeringkan dengan freeze dryer (Depkes RI, 1979).

Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Waru

Dalam pengujian akan digunakan 3 variasi dosis yakni dosis 50, 100 dan 200 mg/kg BB. Ditimbang 50 mg Ekstrak Etanol Daun waru (*Hibiscus tiliaceus*). Dimasukkan ke dalam lumpang, kemudian tuang sedikit demi sedikit suspensi CMC Na 0,5% sambil digerus hingga homogen, setelah homogen dituangkan ke dalam labu entukur 100 ml.

JURNAL PENELITIAN FARMASI HERBAL	VOL. 1 NO. 2	EDITION: NOVEMBER 2018 – APRIL 2019
	http://ejournal.delihusada.ac.id/index.php/JPFH	
RECEIVED: 17 FEBRUARI 2019	REVISED: 21 MARET 2019	ACCEPTED: 25 APRIL 2019

Demikian dengan variasi dosis 100 dan 200 mg/kg BB.

Penyiapan Hewan Percobaan

Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan sebanyak 25 ekor dengan berat 150–200 gram. Sebelum perlakuan, hewan percobaan dikondisikan terlebih dahulu selama 2 minggu dalam kandang yang baik untuk menyesuaikan lingkungannya dan menyeragamkan makanan.

Penyiapan Kontrol, Suspensi Stimuno®, Inokulum Bakteri Dan Uji Hipersensitivitas Tipe Lambat

Uji hipersensitivitas tipe lambat meliputi penyiapan kontrol suspensi CMC Na 0,5%, suspensi Stimuno®, penyiapan suspensi ekstrak (*Hibiscus tiliaceus*) dan inokulum.

Uji Respon Hipersensitivitas

Efek imunomodulator ekstrak etanol daun waru ditentukan dengan mengukur volume respon hipersensitivitas menggunakan uji pembengkakan telapak kaki hewan uji (foot paw swelling test) (Ray 1996 dalam Yolanda, 2017).

Sebanyak 25 ekor tikus dibagi menjadi 5 kelompok dengan pembagian 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif, dan 3 kelompok uji. Tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus jantan. Hewan dikelompokkan sebagai berikut:

Kelompok I diberi sediaan suspensi CMC Na 0,5 %; Kelompok II diberi sediaan suspensi EEDW dengan dosis 50 mg/kg BB; Kelompok III diberi sediaan suspensi EEDW dengan dosis 100 mg/kg BB; Kelompok IV diberi sediaan suspensi EEDW dengan dosis 200 mg/kg BB; Kelompok V diberi sediaan suspensi Stimuno 32,5 mg/kg BB.

Tiap kelompok diinjeksikan dengan 0,1 ml inokulum bakteri *E. Coli* secara

intraperitoneal pada hari ke-0. Perlakuan pemberian ekstrak etanol daun waru dimulai dari hari ke-1 dan diberikan satu kali setiap hari selama 7 hari. Pada hari ke-7, sendi kaki tikus sebelah kanan diberi tanda batas pengukuran volume kaki tikus. Volume kaki tikus diukur sebagai volume awal (V_0). Kemudian tikus diinjeksikan dengan 0,1 ml inokulum bakteri *E. Coli* secara intraplantar pada telapak kaki sebelah kanan.

Pada hari kedelapan (setelah 24 jam) diukur volume pembengkakan kaki tikus dengan plethysmometer digital. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan kaki tikus ke dalam tabung yang berisi air raksa sampai tanda batas pengukuran. Perubahan volume air raksa terlihat pada kenaikan skala pada plestimometer sebagai volume waktu akhir (V_t) kaki tikus. Volume pembengkakan kaki tikus ditentukan berdasarkan selisih antara volume waktu akhir (V_t) dengan volume awal (V_0). (Shivaprasad, 2006 dalam Yolanda, 2017).

Analisis Statistik

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan program SPSS 18 untuk menentukan homogenitas dan normalitasnya dengan uji ANOVA satu arah (One-Way ANOVA) dan untuk mengetahui perbedaan rata-rata diantara perlakuan. Jika terdapat perbedaan, dilanjutkan dengan menggunakan uji Post Hoc Tukey untuk mengetahui variabel mana yang memiliki perbedaan. Berdasarkan nilai signifikan, $P < 0,05$ dianggap signifikan.

PEMBAHASAN

Pemeriksaan Karakterisasi Serbuk Simplisia

Tabel 1 Hasil pemeriksaan karakteristik serbuk simplisia herbabinara.

Parameter	Simplisia Herba Binara %	Standart MMI Binara %
Kadar Air	8,7	<10
Kadar Sari Larut Dalam Air	13	>5,0
Kadar Sari Larut Dalam Etanol	9	>4,5
Kadar Abu Total	5	<13
Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,69	<1,5

5.	mg/kgBB	2,4	3,7	1,3
		2,5	3,8	1,3
		2,5	3,8	1,3

Keterangan :

V_0 = Volume awal kaki tikus
 V_t = Volume pembengkakan kaki tikus
 ΔV = Selisih antara volume waktu akhir (V_t) dengan volume awal (V_0)

Pada Tabel 2 terlihat bahwa EEDW dosis 200 mg/kgBB dengan volume pembengkakan 1,360 ml menunjukkan volume pembengkakan lebih besar dibandingkan dengan EEDW dosis 50 dan 100 mg/kgBB dan suspensi Stimuno 32,5 mg/kgBB yang masing-masing bernilai 0,88 ml, 1,16 ml dan 1,26 ml. Hasil uji ANOVA menunjukkan $P < 0,000$ yang artinya terdapat perbedaan signifikan volume pembengkakan kaki tikus ($P < 0,05$).

Uji Respon Hipersensitivitas Tipe Lambat

Tabel 2 Volume pembengkakan kaki tikus.

NO	Perlakuan	Volume Kaki Tikus (ml)		
		V_0	V_t	ΔV
1.	CMC - Na 0,5%	2,3	2,7	0,4
		2,3	2,6	0,3
		2,4	2,7	0,3
		2,5	2,8	0,3
		2,4	2,8	0,4
2.	EEDW 50 mg/kgBB	2,3	3,2	0,9
		2,4	3,2	0,8
		2,3	3,2	0,9
		2,5	3,4	0,9
		2,4	3,3	0,9
3.	EEDW 100 mg/kgBB	2,4	3,6	1,2
		2,3	3,5	1,2
		2,4	3,5	1,1
		2,4	3,7	1,2
		2,5	3,6	1,1
4.	EEDW 200 mg/kgBB	2,4	3,7	1,3
		2,4	3,8	1,4
		2,3	3,7	1,4
		2,4	3,8	1,4
		2,5	3,9	1,4
	Stimuno 32,5	2,3	3,6	1,3
		2,4	3,6	1,2

KESIMPULAN

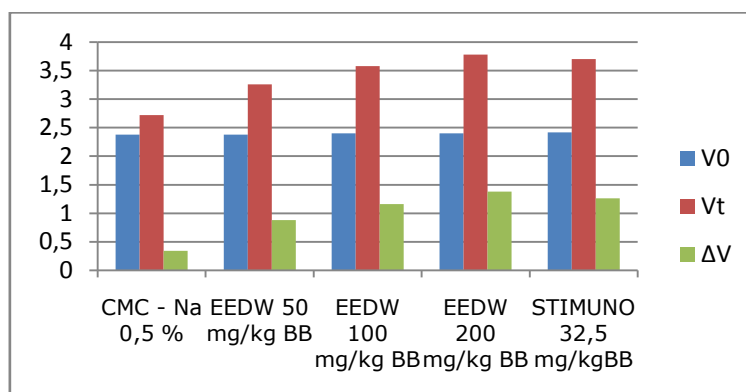
Ekstrak etanol herba binara (EEDW) menunjukkan aktivitas imunomodulator khususnya sebagai imunostimulan. Volume awal (V_0) pembengkakan pada kaki tikus setelah diinduksi bakteri E.coli secara intraperitonium yaitu: CMC-Na 0,5% 2,380 ml, EEDW dosis 50 mg/kgBB 2,40 ml, EEDW dosis 100 mg/kgBB 2,40 ml, EEDW dosis 200 mg/kgBB 2,400 ml dan Stimuno 32,5 mg/kgBB 2,420 ml.

Volume akhir (V_t) pembengkakan pada kaki tikus setelah diinduksi bakteri E.coli secara intraplantar yaitu: CMC-Na 0,5% 2,720 ml, EEDW dosis 50 mg/kgBB 3,260 ml, EEDW dosis 100 mg/kgBB 3,580 ml, EEDW dosis 200 mg/kgBB 3,780 ml dan Stimuno 32,5 mg/kgBB 3,70 ml.

Rentang perbedaan volume pembengkakan volume ($V_t - V_0$) pada kaki tikus yaitu: CMC-Na 0,5% 0,340 ml, EEDW dosis 50 mg/kgBB 0,880 ml, EEDW dosis 100 mg/kgBB 1,160 ml,

EEDW dosis 200 mg/kgBB 1,380 ml dan

Stimuno 32,5 mg/kgBB 1,260ml.



Gambar 1. Ekstrak etanol herba binara

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Kadarusman.,M., and Situmenag, B. 2018. senyawa triterpenoid dari tumbuhan pirdot (*sauralia* sp) (triterpenoid compound from pirdot plant (*sauralia* sp)). *Jurnal ITEKIMA*. 3(1): 12-20.
- 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.
- Baratawidjaja, K. (2012). *Imunologi Dasar*. Edisi ke IX. Yogyakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Halaman 418.
- Dalimartha, S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia* Jilid II. Trubus Agriwidya. Jakarta
- Katno, Pramono S. Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Balai Penelitian Obat Tawangmangu, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada [press release]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Shukla, S.P., Mianty, K, dan Jiran K.H. (2009). Establishing The Reliability of Palatal Rugae Pattern in Individual Identification (Following Orthodontic Treatment). *J Forensic Odontostomatol*. 29: 1: 20-29.
- WHO. (2016). *The International Pharmacopoeia*. Sixth Edition. Electronic Version Geneva. World Health Organization.

JURNAL PENELITIAN FARMASI HERBAL	VOL. 1 NO. 2	EDITION: NOVEMBER 2018 – APRIL 2019
	http://ejournal.delihusada.ac.id/index.php/JPFH	
RECEIVED: 17 FEBRUARI 2019	REVISED: 21 MARET 2019	ACCEPTED: 25 APRIL 2019