

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: 20 MARET 2019	ACCEPTED: 26 APRIL 2019

UJI IMUNOSTIMULATOR DARI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL HERBA BINARA (*ARTEMISIA VULGARIS* LINN) DAN EKSTRAK ETANOL DAUN PUCUK MERAH (*SYZYGIIUM OLEANA*) DENGAN METODE HIPERSENSITIVITAS TIPE LAMBAT PADA TIKUS JANTAN

Romauli Anna Teresia Marbun, Aminah Syarifuddin, Montysory Silalahi,
Radika Bella Fista Ginting
Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam, Jalan Sudirman No. 38 Lubuk Pakam
e-mail : romamarbun60@yahoo.com

Abstract

*One of the herbs used is herbal binara (*Artemisia vulgaris* L) which has been studied as a potential immunomodulator with high antioxidant activity. Previous research also stated that red shoots (*Syzygium oleana*) were studied as potential immunomodulators with high antioxidant activity. Several other species such as *Syzygium samarangense* have 16 flavonoid compounds which show pharmacological immunological activity. The purpose of this study was to determine the content of secondary metabolites of ethanol extract of herbal binara (*Artemisia vulgaris* L.) with red shoots (*Syzygium oleana*) and to determine the best dose of extract from the ethanol extract of herbal binara (*Artemisia vulgaris* L.) with red shoots (*Syzygium oleana*) can reduce the volume of swelling of mouse feet. Examination of the chemical content of secondary metabolites from the ethanol extract of herbal binara (*Artemisia vulgaris* L.) with red shoots (*Syzygium oleana*) is carried out by chemical screening and characterization of *simplicia* and extract. The method used is the slow type hypersensitivity method. In this test the independent variable is the secondary metabolite of ethanol extract of herb binara (*Artemisia vulgaris* L.) with red shoots (*Syzygium oleana*) with four concentrations (50, 100, 200 and 400 mg / kgBB). The positive control used by Stimuno dose is 32.5 mg / kgBB.*

Keywords: *Imuno stimulator, Ekstrak Etanol, hipersensitivitas*

1. 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 mengeksplorasi kekayaan tersebut dalam rangka menemukan senyawa baru, spesies baru bahkan senyawa bioaktif baru yang diantaranya diharapkan sebagai obat bagi beberapa penyakit yang sampai saat ini belum ditemukan obatnya (Krensky et al., 2012).

Obat tradisional Indonesia merupakan warisan budaya bangsa sehingga 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).

Suatu zat yang berperan sebagai penambah atau peningkat imun dapat diperoleh dengan penggunaan herbal yang berkhasiat sebagai imunostimulan. Salah satu herbal yang digunakan adalah herba binara

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: 20 MARET 2019	ACCEPTED: 26 APRIL 2019

(*Artemisia vulgaris* L) yang diteliti berpotensi sebagai imunomodulator dengan aktivitas antioksidan yang tinggi (Marbun et al., 2018). Penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa daun pucuk merah (*Syzygium oleana*) diteliti berpotensi sebagai imunomodulator dengan aktivitas antioksidan yang tinggi. Beberapa spesies lain seperti *Syzygium samarangense* memiliki 16 senyawa flavonoida yang menunjukkan aktivitas imunologi secara farmakologi. Uji fitokimia telah dilaporkan bahwa pada daun pucuk merah mengandung kardenolin, saponin, flavonoid (Helmi, 2016).

2. METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan tikus jantan sebagai hewan percobaan untuk melihat efek imunostimulator herba binara (*Artemisia vulgaris* L.) dengan tumbuhan pucuk merah (*Syzygium oleana*) 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 gelas laboratorium, aluminium foil, neraca listrik (Vibra), seperangkat alat destilasi penetapan kadar air, rotary evaporator, blender (National), mortir dan stamfer, neraca hewan, spuit 1 ml (Terumo), oral sonde, pletismometer air raksa, velocity 18R refrigerated centrifuge (Dynamic), microtube, microtitration plate, micropipette (Socorex), dan kertas saring.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah herba binara (*Artemisia vulgaris* L.) dengan tumbuhan pucuk merah (*Syzygium oleana*), karboksi metil 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 etanol herba binara (*Artemisia vulgaris* L.) dengan tumbuhan pucuk merah (*Syzygium oleana*). Pengambilan sampel dilakukan di tebing tinggi.

Pembuatan Simplisia

Herba binara (*Artemisia vulgaris* L.) dengan tumbuhan pucuk merah (*Syzygium oleana*) dibersihkan dari pengotoran dengan cara mencuci di bawah air mengalir hingga bersih, ditiriskan lalu ditimbang sebagai berat basah, selanjutnya dikeringkan di lemari pengering ($\pm 50^\circ\text{C}$). Setelah kering, Herba binara (*Artemisia vulgaris* L.) dengan tumbuhan pucuk merah (*Syzygium oleana*) ditimbang kembali lalu diserbuk hingga halus. Serbuk simplisia dimasukkan ke dalam wadah plastik bertutup, dan disimpan pada suhu kamar.

Pembuatan Ekstrak Etanol

Sebanyak 1 kg serbuk simplisia herba binara (*Artemisia vulgaris* L.) dengan tumbuhan pucuk merah (*Syzygium oleana*) 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).

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: 20 MARET 2019	ACCEPTED: 26 APRIL 2019

Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Herba Binaradengan Tumbuhan Pucuk Merah (*Syzygium Oleana*)

Dalam pengujian akan digunakan 4 variasi dosis yakni dosis 50, 100, 200, dan 400 mg/kgBB. Ditimbang 50 mg Ekstrak Etanol Herba binara (*Artemisia vulgaris* L.) dengan tumbuhan pucuk merah (*Syzygium oleana*). 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 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 herba binara (*Artemisia vulgaris* L.) dengan tumbuhan pucuk merah (*Syzygium oleana*), dan inokulum.

Uji Hipersensitivitas Tipe Lambat

Efek imunostimulator ekstrak etanol herba binara (*Artemisia vulgaris*L.) dengan tumbuhan pucuk merah (*Syzygium oleana*) ditentukan menggunakan uji respon hipersensitivitas tipe lambat dengan cara mengukur volume pembengkakan telapak kaki hewan uji (*foot paw swelling test*) (Krensky, 2012). Hewan dikelompokkan sebagai berikut:

Kelompok I diberi sediaan suspensi CMC Na 0,5%; Kelompok II diberi sediaan suspensi Stimuno® 32,5 mg/kg BB; Kelompok III diberi sediaan suspensi EEHB

dengan EEPM dengan dosis 50 mg/KgBB; Kelompok IV diberi sediaan suspensi EEHB dengan EEPM dengan dosis 100 mg/KgBB; Kelompok V diberi sediaan suspensi EEHB dengan EEPM dengan dosis 200mg/KgBB; Kelompok VI diberi sediaan suspensi EEHB dengan EEPM dengan dosis 400mg/KgBB.

Tiap kelompok hewan percobaan diinjeksikan dengan 0,1 ml inokulum bakteri *e.coli* secara i.p (intraperitonium) sebagai antigen pada hari ke-0. Perlakuan dimulai dari hari ke-0 da 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 (V0).

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 pletismometer air raksa. 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 pletismometer sebagai volume waktu tertentu (Vt) kaki tikus. Volume pembengkakan kaki tikus ditentukan berdasarkan selisih antara volume waktu tertentu (Vt) dengan volume awal (V0).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan program SPSS. Data hasil penelitian ditentukan homogenitas dan normalitasnya untuk menentukan analisis statistik yang digunakan. Data dianalisis dengan menggunakan uji ANAVA satu arah untuk menentukan perbedaan rata-rata diantara perlakuan. Jika terdapat perbedaan, dilanjutkan dengan menggunakan uji *Post Hoc Tuckey* untuk mengetahui variabel mana yang memiliki perbedaan. Berdasarkan nilai signifikansi $p < 0,05$ dianggap signifikan.

Pemeriksaan Serbuk Simplisia

Tabel 1 Hasil pemeriksaan karakterisasi serbuk simplisia herba binara.

Parameter	Simplisia Herba Binara %	Standart MMI Binara %
Kadar Air	9,21	<10
Kadar Sari Larut Dalam Air	16	>5,0
Kadar Sari Larut Dalam Etanol	9,66	>4,5
Kadar Abu Total	4,33	<13
Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,66	<1,5

Keterangan : Materia Medika Indonesia (MMI) (Depkes RI, 1989).

Tabel 2 Hasil pemeriksaan karakterisasi serbuk simplisia ekstrak etanol Daun pucuk merah (*syzygium oleana*).

Parameter	Simplisia Herba Binara %	Standart MMI Binara %
Kadar Air	9,1	<10
Kadar Sari Larut Dalam Air	13	>5,0
Kadar Sari Larut Dalam Etanol	9,66	>4,5
Kadar Abu Total	3,24	<13
Kadar Abu Tidak Larut Asam	1,2	<1,5

Uji Respon Hipersensitivitas Tipe Lambat

Ekstrak etanol herba binara (EEHB) dengan ekstrak etanol puCuk merah (EPPM) menunjukkan aktivitas imunomodulator khususnya sebagai imunostimulan. Volume awal (Vo) pembengkakan pada kaki tikus setelah diinduksi bakteri *E.coli* secara intraperitonium yaitu : CMC-Na 0,5% 2,280 ml, EEHB dengan EPPM dosis 50 mg/kgBB 2,300 ml, EEHB dengan EPPM dosis 100 mg/kgBB 2,320 ml, EEHB dengan EPPM dosis 200 mg/kgBB 2,300 ml, EEHB dengan EPPM dosis 400 mg/kgBB 2,450 ml dan Stimuno®32,5 mg/kgBB 2,380 ml.

Volume akhir (Vt) pembengkakan pada kaki tikus setelah diinduksi bakteri *E.coli* secara intraplantar yaitu : CMC-Na 0,5% 2,620 ml, EEHB dengan EPPM dosis 50 mg/kgBB 3,260

ml, EEHB dengan EPPM dosis 100 mg/kgBB 3,580 ml, EEHB dengan EPPM dosis 200 mg/kgBB 3,760 ml, EEHB dengan EPPM dosis 400mg/KgBB 3,760 mldan Stimuno®32,5 mg/kgBB 3,210 ml.

Rentang perbedaan volume pembengkakan volume (Vt-Vo) pada kaki tikus yaitu : CMC-Na 0,5% 0,240 ml, EEHB dengan EPPM dosis 50 mg/kgBB 0,860 ml, EEHB dengan EPPM dosis 100 mg/kgBB 1,180 ml, EEHB dengan EPPM dosis 200 mg/kgBB 1,360 ml, EEHB dengan EPPM dosis 400 mg/KgBB 1,40 ml dan Stimuno® 32,5 mg/kgBB 1,300 ml.

Tabel 3 Volume pembengkakan kaki tikus.

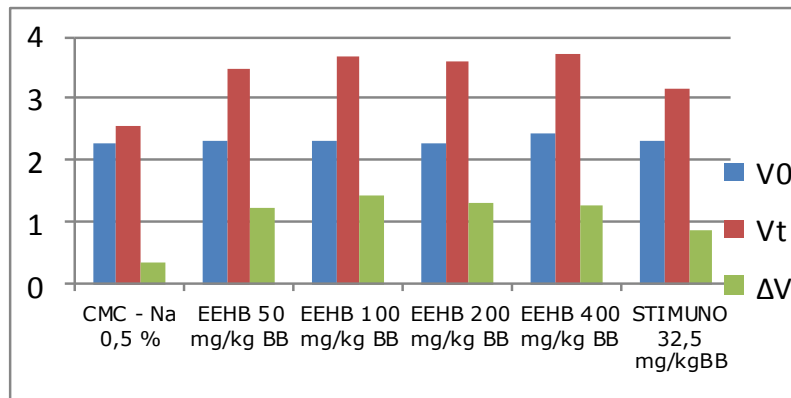
No	Perlakuan	Volume Kaki Tikus (ml)		
		Vo	Vt	ΔV
1	CMC – Na 0,5%	2,2	2,5	0,3
		2,4	2,7	0,3
		2,3	2,6	0,3
		2,2	2,6	0,4
		2,3	2,7	0,4
2	Stimuno® 32,5 mg/kg BB	2,3	3,1	0,8
		2,2	3,1	0,9
		2,4	3,3	0,9
		2,3	3,2	0,9
		2,3	3,1	0,8
3	EEHB dengan EPPM 50 mg/kg BB	2,3	3,5	1,4
		2,3	3,4	1,2
		2,2	3,4	1,2
		2,4	3,6	1,2
		2,4	3,5	1,1
4	EEHB dengan EPPM 100 mg/kg BB	2,3	3,7	1,4
		2,3	3,6	1,4
		2,2	3,5	1,3
		2,3	3,7	1,4
		2,4	3,8	1,6
5	EEHB dengan EPPM 200 mg/kg BB	2,3	3,4	1,1
		2,2	3,5	1,3
		2,2	3,6	1,4
		2,3	3,7	1,4
		2,4	3,7	1,3
6	EEHB dengan EPPM 400 mg/kg BB	2,4	3,7	1,3
		2,5	3,6	1,1
		2,5	3,8	1,3
		2,4	3,7	1,3
		2,4	3,8	1,4

Keterangan :

V0 = Volume awal kaki tikus

Vt = Volume pembengkakan kaki tikus

ΔV = Selisih antara volume waktu akhir (Vt) dengan volume awal (V0)



Gambar 1. Volume pembengkakan kaki tikus

Pada Tabel 2 dan Gambar 1 terlihat bahwa EEHB dosis 200 mg/kgBB dengan volume pembengkakan 1,360 ml menunjukkan volume pembengkakan lebih besar dibandingkan dengan EEHB dosis 50, 100 mg/kgBB dan suspensi imboost 32,5 mg/kgBB yang masing-masing bernilai 0,860 ml, 1,180 ml dan 1,300 ml. Hasil uji ANOVA menunjukkan $P < 0,000$ yang artinya terdapat perbedaan signifikan volume pembengkakan kaki tikus ($P < 0,05$).

4. KESIMPULAN

Pemeriksaan kandungan kimia metabolit sekunder dari ekstrak etanol binara herbal (*Artemisia vulgaris* L.) dengan tunas merah (*Syzygium oleana*) dilakukan dengan penyaringan kimia dan karakterisasi simplisia dan ekstrak. Metode yang digunakan adalah metode hipersensitivitas tipe lambat. Dalam tes ini variabel independen adalah metabolit sekunder dari ekstrak etanol ramuan binara (*Artemisia vulgaris* L.) dengan tunas merah (*Syzygium oleana*) dengan empat konsentrasi (50, 100, 200 dan 400 mg / kgBB). Kontrol positif yang digunakan oleh dosis Stimuno adalah 32,5 mg / kgBB.

DAFTAR PUSTAKA

- 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.

- Dewoto, H.R., 2007, Pengembangan Obat Tradisional Indonesia menjadi Fitofarmaka, *Majalah kedokteran indonesia*, 57(7): 205-211.
- Helmi, A.F. (2016). Ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium oleana*) sebagai inhibitor korosi baja dalam medium asam klorida. *Jurnal farmakologi*. 1(1): 20-26.
- Krensky, A.M., Strom, B.T., dan Bluestone, A.J. (2012). *Imunomodulator: Senyawa Imunosupresif, Tolerogen, dan Immunostimulan*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Halaman 1435-1436
- Kresno, B.S. (2001). *Imunologi: Diagnosis dan Proses Laboratorium*. Edisi keempat. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Halaman 5, 10-12.
- Marbun, R., Situmorang, N., & Wahyuni, S. (2018). The effect of immunomodulator by extract ethanol of herba binara (*artemisia vulgaris* l.) Toward the response of delayed-type hypersensitivity in rat male. *Jurnal Penelitian Farmasi & Herbal*, 1(1), 17-21.
- Roma marbun . (2018). Immunomodulatory effects of ethanol extract artemisia vulgaris l. In male rats. *Asian journal of pharmaceutical and clinical research*. 11(1): 245-240.