

Aktivitas Imunodulator Fraksi Etil Asetat Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L) Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus* L) Yang Telah Diinfeksi *Staphylococcus aureus*

Muhammad Asri SR¹⁾, Rudia Tamarina²⁾, Suryanita³⁾

Email: muhammadasri324@unimerz.ac.id

¹⁾ Fakultas Farmasi, Universitas Megarezky, Makassar, Sulawesi Selatan

²⁾ Fakultas Farmasi, Universitas Megarezky, Makassar, Sulawesi Selatan

³⁾ Jurusan Farmasi, Sekolah Tinggi Kesehatan Nani Hasanuddin Makassar, Sulawesi Selatan

ABSTRAK

Sistem imun berfungsi melindungi tubuh dari benda-beda asing seperti mikroorganisme, bakteri, virus dan parasit. Sistem imun dapat ditingkatkan dengan pemberian imunomodulator. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas imunomodulator fraksi daun jambang (*Syzygium cumini* L) pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L) yang telah diinfeksi *Staphylococcus aureus*. Pembuatan ekstrak dilakukan secara fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat, etanol, dan n-heksan. Pengujian aktivitas imunomodulator dilakukan dengan menghitung nilai aktivitas fagositosis sel makrofag peritoneum dengan menggunakan metode pewarnaan giemsa dengan pembesaran 100X pada alat mikroskop. Hewan uji tikus sebanyak 15 ekor dibagi dalam lima kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif (Na-CMC), Kontrol positif (Stimuno® 50 mg), dan kelompok dosis ekstrak 140 mg/kg BB, 210mg/kg BB, 280mg/kg BB. Perlakuan diberikan selama 7 hari berturut-turut secara peroral dan diberikan injeksi bakteri *Staphylococcus aureus* secara intraperitoneal pada hari 8 masing-masing kelompok. Hasil penelitian apusan cairan peritoneum digunakan untuk menentukan aktivitas sel makrofag. Data dianalisis dengan uji *one way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *post hoc* HSD. Uji aktivitas imunomodulator menunjukkan bahwa dosis 140 mg/kg BB, 210mg/kg BB dan 280mg/kg BB memiliki aktivitas imunomodulator dengan menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa uji aktivitas imunomodulator pada dosis 280mg/kg BB memiliki aktivitas imunomodulator yang lebih besar dikarenakan jumlah sel makrofag yang teraktivitas lebih banyak.

Kata kunci: Daun Jamblang, Fraksi Etil Asetat, Imunodulator.

ABSTRACT

The immune system functions to protect the body from foreign substances such as microorganisms, bacteria, viruses and parasites. The immune system can be enhanced by administering immunomodulators. This study aims to determine the immunomodulatory activity of the jambang leaf fraction (*Syzygium cumini* L) in male white rats (*Rattus norvegicus* L) that have been infected with *Staphylococcus aureus*. The extract was prepared by fractionation using ethyl acetate, ethanol, and n-hexane as solvents. Testing of immunomodulatory activity was carried out by calculating the phagocytic activity value of peritoneal macrophage cells using the Giemsa staining method with 100X magnification on a microscope. Fifteen rats tested were divided into five treatment groups, namely negative control (Na-CMC), positive control (Stimuno® 50 mg), and the extract dose group of 140 mg/kg BW, 210 mg/kg BW, 280 mg/kg BW. The treatment was given orally for 7 consecutive days and intraperitoneal injection of *Staphylococcus aureus* bacteria was given on day 8 for each group. The results of peritoneal fluid smear studies are used to determine the activity of macrophage cells. Data were analyzed by one way ANOVA test and followed by the HSD post hoc test. Immunomodulatory activity test showed that doses of 140 mg/kg BW, 210 mg/kg BW and 280 mg/kg BW had immunomodulatory activity by showing significant differences with the negative control and positive control groups ($p < 0.05$). Based on the results of the study, it was shown that the immunomodulatory activity test at a dose of 280 mg/kg BW had greater immunomodulatory activity due to the greater number of activated macrophage cells.

Keywords: Jambang Leaves, Fraksi Etil Asetat, Imunodulator.

1. LATAR BELAKANG

Sistem imun bertanggung jawab dalam melawan penyakit yang disebabkan oleh berbagai mikroorganisme dengan menjaga keseimbangan di dalam dan di luar tubuh. Selain itu, sistem ini mampu menyimpan memori antigen yang pernah menginfeksi tubuh, mempercepat proses pemulihan [4]. Lemahnya imunitas bisa disebabkan oleh berbagai faktor seperti pola tidur tidak teratur, stres, polusi, pola makan yang tidak sehat, dan kurangnya aktivitas fisik. Kondisi ini memudahkan mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur, dan parasit untuk menyerang sistem pertahanan tubuh. Oleh karena itu, penting untuk menggunakan imunomodulator guna meningkatkan kekuatan sistem imun tubuh [4].

Imunomodulator adalah bahan kimia yang meningkatkan pertahanan atau daya tahan tubuh secara spesifik atau tidak spesifik [1]. Non Steroid Anti Inflammatory Drugs (NSAID), imunosupresan, dan imunostimulan adalah beberapa obat sintetik yang biasa digunakan untuk mengembalikan keseimbangan sistem kekebalan tubuh. Saat digunakan, beberapa obat dapat menyebabkan efek samping yang tidak diinginkan. Ini perlu diperhatikan karena imunomodulator yang terbuat dari bahan alami sangat penting untuk pengobatan yang efektif dan tanpa efek samping [1].

Dalam pengobatan tradisional, jambang digunakan sebagai obat untuk berbagai penyakit, termasuk biji, buah, daun, bunga, dan kulit kayu. Tumbuhan ini mengandung glikosida, asam ellagic, isoquercetin, kaempferol, myricetin, dan antosianin sebagai aktif utama, yang memiliki efek farmakologi seperti antihiperlipidemia, antidiabetes, antikanker, antioksidan, antibakteri, antijamur, dan antidiare [2]. Daun jambang (*Syzgium cumini* L) mengandung glikosida, alkaloid, flavonoid, tanin, steroid/triterpenoid, dan saponin. Hasil studi menunjukkan bahwa daun Jambang mengandung flavonoid dalam tanaman jambang sangat tinggi [2]. Studi telah menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki sifat imunomodulator. Ini telah ditunjukkan dengan dosis 140 mg/kg BB, 210 mg/kg BB, dan 280 mg/kg BB, masing-masing, yang ditinjau dari peningkatan respon imun non spesifik dengan menggunakan metode bersihan karbon yang digunakan dalam penelitian sebelumnya [1].

mengatakan bahwa flavonoid dapat meningkatkan sistem kekebalan dengan meningkatkan proliferasi limfosit sel T dan merangsang sel fagosit [1].

Akibatnya, penulis ingin meneliti lebih lanjut tentang aktivitas imonomodulator fraksi etil asetat daun jambang (*Syzgium cumini* L) pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L) yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan latar belakang di atas, ini didukung oleh potensi daun jambang sebagai obat tradisional.

2. METODE PENELITIAN

Studi ini adalah eksperimen pasca tes hanya desain kelompok kontrol. Studi ini bertujuan untuk mengetahui fungsi imunodulator fraksi etil asetat daun jambang.

2.1 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan alu, Corong pisah 250 mL (*Iwaki*), degglas, gelas kimia 250-500 mL (*Iwaki*), kaca objek, kanula, lumpang, mikroskop CX23 (*olympus*), mikroskop MD 2800, rotary evaporator, seperangkat alat bedah, spoit, dan statif klem. aquadest, etanol 96%, etil asetat, eter, giemsa 10%, larutan PBS (Phosphate Buffer Saline), mc farland 0,5%, metanol, minyak imersi, n-heksan, nacl 0,9%, Na-CMC 0,5%, stimuno® 50 mg.

2.2 Prosedur Kerja

2.2.1 Penyiapan Sampel

Daun jambang yang berasal dari Makassar, yang merupakan ibu kota Sulawesi Selatan. Daun dijemur secara tidak langsung di bawah sinar matahari sebelum dihaluskan dan dibuat serbuk simplisian [1]. Serbuk kemudian ditimbang dan beratnya dihitung.

2.2.2 Ekstraksi

Maserasi adalah teknik yang digunakan untuk melakukan proses ekstraksi. 700 gram serbuk daun jambang dimasukkan ke dalam wadah tertutup dan direndam menggunakan etanol 96% selama tiga puluh empat jam. Selama tiga hari berikutnya, pelarut diganti setiap dua puluh empat jam, dengan campuran sekali dan saringan kain untuk menghasilkan maserat atau filtrat. Setelah itu, filtrat dipekatkan menggunakan evaporator

rotasi hingga menghasilkan ekstrak cair. Setelah itu, sampel disimpan di atas porselin dan dipekatkan di dalam bak air pada suhu 60 derajat Celcius [1].

2.2.3 Fraksinasi

Dalam proses fraksinasi, ekstrak kental daun jambang dilarutkan dengan etanol 96% dimasukkan ke dalam corong pisah dan difraksinasi dengan n-heksan dengan perbandingan 1:1. Kemudian dikocok dengan kuat dan didiamkan beberapa menit, membentuk dua lapisan: n-heksan dan residu etanol. Residu etanol kemudian dipisahkan dan difraksinasi dengan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:1, dan corong didiamkan beberapa menit. Daun jambang (*Syzygium cumini* L) pada fasa larut etil asetat dan larut etanol terpisah. Larut etil asetat juga diangin-anginkan. Timbang ekstrak untuk mengetahui beratnya.

2.3 Uji Imunodulator

Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok uji, setiap kelompok uji minimal terdiri dari 3 hewan uji. Kelompok tersebut terdiri kelompok perlakuan (dosis 140 mg/Kg BB, dosis 210 mg/Kg BB dan dosis 280 mg/Kg BB), kelompok kontrol positif (Stimuno® 50 mg) dan kelompok kontrol negatif (Na-CMC 0,5%). Perlakuan hewan uji dilakukan setiap 1 hari sekali selama 7 hari secara peroral.

2.4 Uji Fagositosis

Pada hari ke delapan, Pada hari ke delapan, suspensi bakteri *staphylococcus aureus* 0,5 mililiter diberikan kepada setiap tikus dan dibiarkan selama satu jam. Setelah dianestesi eter, perut tikus dibedah dengan alat bedah steril. Jika ada sedikit cairan peritoneum di perut, tambahkan larutan 1-2 mililiter Phosphat Buffered Saline (PBS) steril 7, dikocok dengan pelan, dan gunakan spoit 1 mililiter untuk mengambil sampel cairan peritoneum. Cairan peritoneum diletakkan pada gelas objek dan ditutup dengan metanol selama lima menit. Kemudian, pewarnaan giemsa 10% ditambahkan, dibiarkan selama dua puluh menit, dan dibilas dengan air mengalir. Setelah sediaan mengering, minyak emersi diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100-1000X [5].

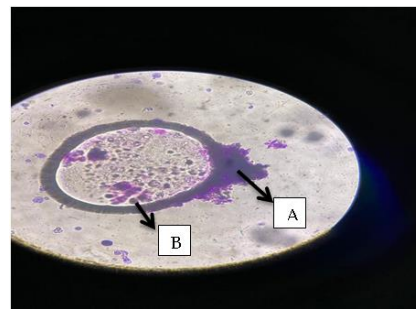
Menghitung aktivitas fagositosis sel makrofag peritoneum tikus adalah cara untuk mengetahui aktivitas imunostimulan. Nilai aktivitas fagositosis (SPA) adalah persentase sel makrofag yang aktif melakukan proses fagositosis di antara seratus sel makrofag [5].

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak kental daun jambang yang didapatkan seberat 82,78 gram dengan nilai rendamen 11,82% dan hasil fraksnasi etil asetat kental daun jambang seberat 23 gram dengan nilai rendamen 2,17%.

Uji Efek Imunomodulator

Pada penelitian ini, efek imunomodulator fraksi etil asetat daun jambang diuji. Gambar 1 menunjukkan perbedaan antara makrofag aktif dan tidak aktif.



Gambar. 1

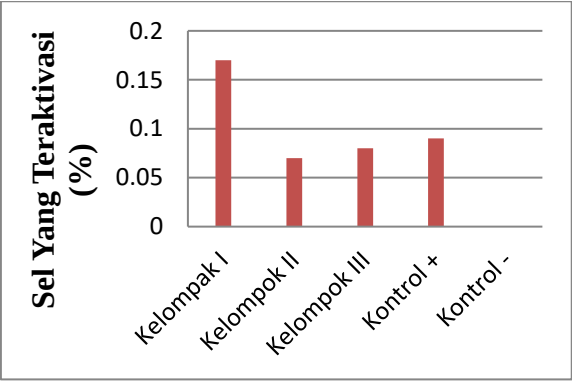
Makrofag aktif (A), makrofag tidak aktif (B)

Bentuk dan ukuran makrofag yang meningkat membedakan makrofag yang aktif dan tidak aktif. Membrannya menjadi lebih berliku-liku, terdapat lebih banyak lisosom, aparat golgi membesar, dan retikulum endoplasma kasar berkembang. Sebaliknya, makrofag yang tidak aktif lebih kecil [1].

Menghitung nilai aktivitas fagositosis makrofag peritoneum mencit adalah cara untuk menguji imunomodulator. Ini dapat dilakukan dengan menghitung jumlah makrofag yang aktif melakukan fagositosis di antara 100 jumlah sel yang dinyatakan dalam bentuk persen, seperti yang ditunjukkan pada tabel 1 dan grafik 1.

Tabel 1.
Hasil Perhitungan Persentase Uji
Imunomodulator Fraksi Etil Asetat Daun jamblang
(*Syzgium cumini* L).

Kelompok	Jumlah sel yang teraktivasi (%)			Rata-rata (%)	Standar Deviasi	Sig.
	1	2	3			
I	0,15	0,16	0,20	0,17	0,026	0,001
II	0,06	0,07	0,08	0,07	0,010	
III	0,07	0,08	0,10	0,08	0,015	
K+	0,08	0,09	0,11	0,09	0,015	
K-	-	-	-	-	-	



Gambar 2
Grafik sel makrofag yang teraktivasi

Berdasarkan Hasil yang diperoleh dari pengamatan seperti pada tabel 1 dan gambar 2 secara mikroskopik bahwa pada kelompok kontrol negatif tidak memberikan efek imunomodulator karena tidak mengandung zat aktif. Sedangkan, kelompok kontrol positif memiliki aktivitas fagositosis yang baik sebesar 0,09%. Dan pada kelompok dosis 140mg/kgBB memberikan efek fagositosis sebesar 0,17%, kelompok dosis 210 mg/kgBB memberikan efek fagositosis sebesar 0,07% dan pada kelompok dosis 280 mg/kgBB memberikan efek fagositosis sebesar 0,08% terhadap sel makrofag hewan uji tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.) yang telah diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus*, dimana pada dosis ini memiliki aktivitas imunomodulator lebih besar karena jumlah sel makrofag yang teraktivasi lebih banyak.

Makrofag merupakan hal penting untuk mekanisme pertahanan terhadap berbagai infeksi. Berbagai sitokin yang memengaruhi fungsi makrofag, IFN- γ , diproduksi oleh sel T helper spesifik antigen yang mengaktifkan makrofag (Jafriati, 2022). Salah satu peran utama makrofag dalam sistem imun alami adalah fagositosis yang bertujuan untuk membuang partikel ekstraseluler, sel yang rusak atau mati dan bakteri patogen, Fagositosis merupakan salah satu cara untuk melindungi tubuh dari invasi bakteri dengan cara menelan bakteri patogen dan menghancurkannya. Pengenalan bakteri oleh sel fagosit berperan penting dalam proses fagositosis. Fagositosis adalah proses yang kompleks. Selain internalisasi bakteri atau benda asing, juga memicu aktivasi sel makrofag untuk mensintesis berbagai enzim toksik (oksigen reaktif menengah, sintetase nitrat oksida terinduksi dan protease lisosom) dan sitokin (IL-1 dan TNF- α) ke bakteri fagositosis (Haniastuti, 2009). Sel makrofag memiliki dua fungsi, yaitu penghancuran antigen dan presentasi antigen ke sel T-limfosit yang dikenal dengan sistem antigen-presenting cell (APC). Ini adalah fase awal dari respon imun seluler dan humoral. Makrofag yang telah mengkonsumsi antigen juga memproduksi beberapa sitokin, yaitu protein yang penting untuk respon imun, seperti IL-1, IL-2, IL-6, TNF α . Sistem ini berpengaruh pada sel efektor, termasuk sel makrofag itu sendiri (Aldi *et al.*, 2015). Di bawah mikroskop makrofag dicirikan oleh permukaan yang tidak beraturan dengan lipatan dan lubang, menunjukkan aktivitas pinositosis dan fagositosisnya berdasarkan morfologi. Makrofag biasanya memiliki aparatus Golgi yang berkembang dengan baik, banyak lisosom, dan RE kasar (Mescher, 2012)

Aktivitas imunostimulan ditentukan dengan menghitung aktivitas fagositosis sel makrofag peritoneum tikus. Nilai aktivitas fagositosis adalah persentase sel makrofag yang aktif melakukan proses fagositosis diantara 100 sel makrofag (Fadliyah *et al.*, 2022).

$$\text{Aktivitas Fagositosis} = \frac{\text{Jumlah sel makrofag aktif}}{\text{jumlah sel makrofag total}} \times 100\%$$

Pengujian imunomodulator dilakukan dengan menghitung nilai aktivitas fagositosis sel makrofag peritoneum dengan menggunakan metode pewarnaan giemsa dengan pembesaran maksimal pada alat mikroskop (Fadliyah *et al.*, 2022). Hasil yang diperoleh dari pengamatan seperti pada tabel 4.3 secara mikroskopik bahwa pada kelompok kontrol negatif tidak memberikan efek imunomodulator karena tidak mengandung zat aktif. Sedangkan, kelompok kontrol positif memiliki aktivitas fagositosis yang baik sebesar 0,09%. Dan pada kelompok dosis 140mg/kgBB memberikan efek fagositosis sebesar 0,17%, kelompok dosis 210 mg/kgBB memberikan efek fagositosis sebesar 0,07% dan pada kelompok dosis 280 mg/kgBB memberikan efek fagositosis sebesar 0,08% terhadap sel makrofag hewan uji tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L) yang telah diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus*, dimana pada dosis ini memiliki aktivitas imunomodulator lebih besar karena jumlah sel makrofag yang teraktivasi lebih banyak.

4. KESIMPULAN

Fraksi daun jambang (*Syzygium cumini* L) memiliki aktivitas imunomodulator terhadap hewan uji tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L) yang telah diinfeksi dengan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*. Serta pada konsentrasi 140mg/kgBB memiliki aktivitas imunomodulator sebesar 0,20%, konsentrasi 210mg/kgBB memiliki aktivitas sebesar 0,08% dan pada konsentrasi 280mg/kgBB yang memiliki aktivitas imunomodulator lebih besar yaitu 0,08% dimana jumlah sel makrofag yang teraktivasi lebih banyak terhadap hewan uji tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L).

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Fadliyah malik, mentarry bafadal, dian munasari, rina andriani, muh. ilyas yusuf, sahidin, wahyuni, adryan fristiohady, wa ode nurfinti. (2022). A. D. Poulsen. Terhadap Fagositosis Sel Makrofag Pada Tikus Jantan. *Mandala Pharmacon Indonesia*, 8(1).
- [2] Aldi, Y., Novelin, F., & Handayani, D. (2015). Aktivitas Beberapa Subfraksi Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Makrofag. *Scientia : Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 5(2), 92.
- [3] Himyatul hidayah, Rini ernawati, Annida lutfiyah, Jihan Khaerunnisa, muhammad zein, Latif, T. L. (2023). Jurnal Pendidikan dan Konseling. *Potensi Tumbuhan Jambang (*Syzygium Cumini* L Skeels) Sebagai Antikolesterol Berdasarkan Kandungan Senyawa Aktif*, 5, 1707–1715.
- [4] Haniastuti, T. (2009). Penurunan Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag Mencit setelah Distimulasi Minyak Atsiri Kencur terhadap *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*. *Dentika Dental Journal*, 14(1), 11–14.
- [5] Jatmiko Susilo, Agitya Resti Erwiyani dan Nuratul Awwalia The Immunomodulator Activities of Ethanol Extract of Jambang (*Syzygium cumini* (L) Skeel) Leaves Toward Non-Specific Immune Response on Male Mice Babl/c Strain. (n.d.). 2(L).
- [6] Jafriati. (2022). *Monograf Ekstrak Senyawa Thalassia hemprichii Pada Salmonella typhi*. CV. Literasi Nusantara Abadi.
- [7] Mescher, A. L. (2012). *Histologi Dasar Junqueira Teks Dan Atlas* (12th ed.). Buku Kedokteran EGC.
- [8] Susilawati, Y., Moektiwardoyo, M., Halimah, E., Wicaksono, I. A., Ramadhania, Z. M., & Prastiwi, S. S. (2019). Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Metode Induksi Bakteri dan CBC-Diff. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(4), 303–310.
- [9] Wahyuni, W., Yusuf, M. I., Malik, F., Lubis, A. F., Indalifiyany, A., & Sahidin, I. (2019). Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Spons *Melophlus sarasinorum* Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag

Pada Mencit Jantan Balb/C. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 5(2), 147–157.