

IDENTIFIKASI AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN M (IG.M) EKSTRAK ETANOLIK DAUN CEPLUKAN (*Physalis Minima* Linn.) PADA MENCIT

Nurmaya Effendi*, Harti Widiastuti**

*, ** Laboratorium Kimia Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar

Abstrak

Sistem imun adalah sistem yang sangat penting bagi tubuh untuk menghindari dan melawan berbagai penyakit. Keseimbangan sistem imun dapat dipengaruhi oleh faktor internal dalam tubuh dan faktor eksternal yang perlu dipertahankan untuk menjaga tubuh agar tetap sehat. Sistem imun ini berkaitan erat dengan adanya antibodi. Antibodi merupakan protein immunoglobulin yang disekresi oleh sel B yang terfiksasi oleh antigen. Tanaman ceplukan (*Physalis minima* Linn.) termasuk famili Solanaceae merupakan tanaman yang tidak banyak diketahui orang bahwa dapat menyembuhkan berbagai penyakit. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun ceplukan (*Physalis minima* Linn.) untuk meningkatkan aktivitas IgM.

Daun ceplukan kering dimaserasi dengan etanol. Ekstrak etanolik cair yang diperoleh dikentalkan dengan rotavapor dan kemudian disuspensikan dengan Na-CMC sebagai pembawa. Ekstrak diberikan secara oral kekelompok mencit uji dengan menggunakan kontrol negatif Na-CMC dan selanjutnya diimunisasi dengan suspensi sel darah merah domba secara intraperitoneal dan setelah lima hari selanjutnya darah mencit diambil secara intrakardial. Darah mencit selanjutnya digumpalkan, serumnya lalu diencerkan dengan PBS dan diuji lagi dengan sel darah merah domba, dan setelah diinkubasi selanjutnya diamati pengenceran tertinggi darah yang dapat mengaglutinasi sel darah domba.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanolik daun Ceplukan (*Physalis minima* Linn.) konsentrasi 4%, 8% dan 12% b/v dapat meningkatkan aktivitas IgM dengan titer immunoglobulin rata-rata masing-masing sebesar 1/32, 1/128 dan 1/64 sedangkan kelompok perlakuan kontrol, rata-rata titer immunoglobulinnya hanya 1/8.

Kata Kunci : sistem imun, antibiotik, ceplukan, IgM

PENDAHULUAN

Sistem imun adalah sistem yang sangat penting bagi tubuh untuk menghindari dan melawan berbagai penyakit (Abbas *et al*, 2007). Keseimbangan sistem imun dapat dipengaruhi oleh faktor internal dalam tubuh dan faktor eksternal yang perlu dipertahankan untuk menjaga tubuh agar tetap sehat.

Senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan yang berefek memicu sistem imun pada dekade terakhir ini mulai banyak diaplikasikan sebagai "immunotherapy" yaitu suatu cara pengobatan yang mengkombinasikan pengobatan konvensional dengan terapi imun untuk memperoleh hasil pengobatan yang maksimal terhadap berbagai penyakit

(Ma'at, 2010). Sistem imun ini berkaitan erat dengan adanya antibodi. Antibodi merupakan protein immunoglobulin yang disekresi oleh sel B yang terfiksasi oleh antigen. Semua molekul antibodi terdiri dari dua untaian peptida pendek yang sama yang dikenal dengan *light chain*, *kappa* dan *lambda* yang terdiri dari 230 asam amino, sedang yang terdiri dari untaian peptida yang panjang disebut *heavy chain* (immunoglobulin) yang terdiri dari lima jenis yaitu IgG, IgA, IgM, IgD dan IgE (Bratawidjaja, 2004). Memelihara daya tahan tubuh tidak cukup hanya dengan keseimbangan gizi yang dilengkapi dengan vitamin, mineral dan asam amino esensial. Daya tahan tubuh alami harus diciptakan oleh kesehatan organ-organ tubuh yang terutama terdiri dari ketahanan permukaan epitel yaitu jaringan kulit organ, keseimbangan faktor-faktor humoral yaitu jaringan hati dan ginjal serta keseimbangan faktor-faktor seluler. Organ-organ pendukung daya tahan tubuh alamiah ini dapat dipelihara dan ditingkatkan fungsinya melalui konsumsi tanaman obat (Winarno, 2003).

Upaya penemuan obat baru yang bersumber dari bahan alam telah banyak dilakukan secara eksploratif. Indonesia adalah negara yang kaya dengan tumbuhan (lebih kurang 30.000 spesies) dan baru 940 jenis tumbuhan telah diketahui berkhasiat sebagai obat (Soeksmanto *et al.*, 2010). Salah

satu tumbuhan yang berkhasiat obat adalah daun ceplukan. Tanaman ceplukan (*Physalis minima* Linn.), merupakan tanaman yang tidak banyak diketahui orang bahwa dapat menyembuhkan berbagai penyakit dan tidak sulit ditemukan, dapat tumbuh didataran rendah hingga dataran tinggi, sehingga bisa dijumpai di pekarangan dan mendapat sinar matahari penuh dan tanahnya gembur (Siyok, 2002). Kandungan kimianya antara lain asam klorogenat, asam citrun, fisalin, flavonoid, saponin dan polifenol (Winarno, 2003). Selain itu, daun ceplukan juga berkhasiat sebagai antipiretik, analgetik, diuretik, anti inflamasi dan detoksifikasi (Wijayakusuma, 2004).

Berdasarkan uraian tersebut, muncul permasalahan tentang apakah ekstrak etanolik daun ceplukan yang dapat meningkatkan aktivitas Ig.M karena mengandung senyawa polifenol yang diketahui aktif sebagai senyawa yang bertanggung jawab untuk memicu sistem imun tubuh, dengan alasan tersebut maka dilakukanlah penelitian ini. Hasil penelitian yang diperoleh nantinya diharapkan dapat memberi informasi kepada masyarakat tentang penggunaan daun ceplukan sebagai imunoterapi yang dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah. Selanjutnya dapat diteliti golongan bioaktif yang bertanggung jawab sebagai pemicu aktivitas IgM dan dapat digunakan sebagai

senyawa pemandu yang dapat dikembangkan sebagai obat baru.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun ceplukan (*Physalis minima* Linn.) untuk meningkatkan aktivitas IgM..

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat rotavapor, autoklaf, batang pengaduk, Erlenmeyer, gelas piala, labu alas bulat, mikropipet, pipet, piring Mikrotitrasi (*Wheel plate*) 96 lubang, sendok tanduk, spoit, sentrifuge, tabung reaksi, tabung venoject, timbangan analitik, timbangan gram, tip pipet, wadah maserasi, *water bath*

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, Sel darah merah Domba, etanol, Mencit (*Mus musculus*), Kertas saring, Na CMC, larutan PBS, daun Ceplukan (*Physalis minima* Linn.)

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel Daun Ceplukan

Sampel berupa daun Ceplukan (*Physalis minima* Linn.) diambil di kota Makassar, pada pukul 10.00 dipetik daun kelima dari pucuk.

Pengolahan Sampel Daun Ceplukan

Sampel daun Ceplukan (*Physalis minima* Linn.) yang telah dikumpulkan, dipotong-potong kecil, dikeringkan dengan

cara diangin-anginkan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari langsung.

Penyiapan Hewan Coba Mencit

Hewan coba yang digunakan adalah Mencit jantan (*Mus musculus*) yang berbadan sehat dengan berat badan 25 – 30 gram. Jumlah Mencit yang digunakan sebanyak 16 ekor yang dibagi dalam 4 kelompok, yakni 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Ceplukan

Daun Ceplukan (*Physalis minima* Linn.) yang telah dikeringkan, dimasukkan dalam bejana maserasi, ditambahkan pelarut etanol hingga sampel terendam. Dibiarkan selama 5 hari dengan sesering mungkin diaduk. Setelah 5 hari, disaring kemudian diperas dan ditambah cairan penyari lagi, penyaringan dilakukan tiga kali. Sari yang diperoleh diuapkan dengan rotavapor.

Pembuatan Suspensi Na-CMC 1 %

Ditimbang Na.CMC sebanyak 1 gram. Ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam akuades panas sambil dikocok kuat dengan batang pengaduk. Kemudian ditambahkan dalam larutan tersebut 50 ml akuades yang tidak dipanaskan sedikit demi sedikit sambil diaduk. Akuades yang digunakan adalah 100 ml.

Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Ceplukan

Suspensi ekstrak etanol daun

Ceplukan (*Physalis minima* Linn.) dibuat dengan menambahkan larutan koloidal Na-CMC 1% b/v sebagai pembawa, dibuat dalam konsentrasi 4% b/v, 8% b/v dan 12% b/v. Cara pembuatan konsentrasi 4% b/v adalah dengan menimbang ekstrak sebanyak 4 gram kemudian digerus dalam lumpang, lalu ditambahkan larutan Na-CMC 1% b/v dalam labu terukur 100 mL hingga tanda. Untuk membuat suspensi ekstrak dengan konsentrasi 8% b/v dan 12% b/v dilakukan dengan cara yang sama dengan menimbang ekstrak masing-masing sebanyak 8 gram dan 12 gram. Suspensi dibuat segar setiap kali pertakuan.

Penyiapan Suspensi Sel Darah Merah (SDMD) 2 %

Tampung darah Domba dalam wadah bersih dan kering yang berisi serbuk EDTA sebagai antikoagulan. Untuk 1 mL darah Domba, diperlukan 1 mg EDTA. Pisahkan sel darah merah Domba (SDMD) dan plasmanya dengan pemusingan pada sentrifus 1500 rpm. Selanjutnya cuci sel darah merah dengan menambahkan PBS (*Phosphat Buffered Saline*) dalam jumlah besar dan tabung berisi suspensi tersebut dibolak-balik beberapa kali dan disentrifus kembali. Lakukan pencucian paling sedikit 3 kali. Setelah selesai, PBS dibuang dan diperoleh SDMD 100 %. Kemudian pada SDMD 100 % tadi tambahkan PBS dengan volume sama hingga diperoleh suspensi SDMD 50 %. Siapkan antigen

yang akan digunakan dengan mengencerkan 0,4 mL suspensi SDMD 50 % dengan 9,6 mL PBS sehingga diperoleh 10 mL suspensi antigen (SDMD 2 %).

Pembuatan Larutan Phosphate Buffer Saline

Phosphat Buffered Saline (PBS) disiapkan dengan terlebih membuat larutan A yaitu larutan $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1,38 g/L dan KCl 8,3 g/L dan larutan B yaitu larutan NaH_2PO_4 1,42 g/L dan NaCl 8,5 g/L. selanjutnya 280 mL larutan A ditambahkan pada 720 mL larutan B.

Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Kelompok Kontrol

Mencit jantan diimunisasi dengan suspensi sel darah merah Domba 2% dengan volume 0,1 mL/ekor secara intraperitoneal. Selanjutnya diberi suspensi Na-CMC 1% dengan volume 1 mL secara oral setiap hari selama 6 hari. Selanjutnya pada hari kelima setelah imunisasi, darah Mencit diambil secara intrakardial.

Kelompok II

Mencit jantan diimunisasi dengan suspensi sel darah merah Domba 2% dengan volume 0,1 mL/ekor secara intraperitoneal. Selanjutnya mencit jantan diberi suspensi ekstrak etanolik daun Ceplukan (*Physalis minima* Linn.) dengan konsentrasi 4% b/v dengan volume 1 mL secara oral setiap hari selama 6 hari. Selanjutnya pada hari kelima setelah imunisasi, darah Mencit diambil secara

intrakardial.

Kelompok III

Mencit jantan diimunisasi dengan suspensi sel darah merah Domba 2% dengan volume 0,1 mL/ekor secara intraperitoneal. Selanjutnya mencit jantan diberi suspensi ekstrak etanolik daun Ceplukan (*Physalis minima* Linn.) dengan konsentrasi 8% b/v dengan volume 1 mL secara oral setiap hari selama 6 hari. Selanjutnya pada hari kelima setelah imunisasi, darah Mencit diambil secara intrakardial.

Kelompok IV

Mencit jantan diimunisasi dengan suspensi sel darah merah Domba 2% dengan volume 0,1 mL/ekor secara intraperitoneal. Selanjutnya mencit jantan diberi suspensi ekstrak etanolik daun Ceplukan (*Physalis minima* Linn.) dengan konsentrasi 4% b/v dengan volume 1 mL secara oral setiap hari selama 6 hari. Selanjutnya pada hari kelima setelah imunisasi, darah Mencit diambil secara intrakardial.

Teknik Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah mencit secara intrakardial pada jantung dengan

menggunakan spoit.

Pengujian Aktivitas IgM

Darah yang telah diambil selanjutnya dibiarkan menggumpal pada suhu kamar selama 1-2 jam, selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dan diambil serumnya (supernatan). Serum selanjutnya diencerkan secara "double dilution" 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/1256 dan 1/1512 dengan PBS, sebanyak 50 µL untuk setiap sumur pada piring mikrotitrasi (*wheel Plate 96*) selanjutnya pada tiap sumur ditambahkan 50 µL suspensi sel darah merah domba 2% lalu diaduk rata (digoyang-goyang) selama 5 menit. Selanjutnya diinkubasi pada 37⁰ C selama 60 menit dan didiamkan semalam pada suhu kamar. Dilakukan pengamatan pengenceran tertinggi dari serum darah mencit yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba.

Pengumpulan dan Analisis Data

Data pengamatan yang diperoleh, diolah berdasarkan hasil aglutinasi dan dianalisis.

HASIL PENELITIAN

Perlakuan	Aglutinasi Titer IgM			
	Kontrol	Ciplukan 4%	Ciplukan 8%	Ciplukan 12%
Replikasi 1	1/8	1/32	1/128	1/64
Replikasi 2	1/8	1/32	1/128	1/64
Replikasi 3	1/8	1/32	1/128	1/64

Data uji aktivitas immunoglobulin M (IgM) setelah pemberian ekstrak etanol daun Ceplukan (*Physalis minima* Linn.) 4%, 8% dan 12% b/v berdasarkan titer immunoglobulin M (IgM) pada mencit jantan 5 hari setelah diberikan SDMD 2% dapat dilihat pada tabel.

PEMBAHASAN

Imunoglobulin merupakan substansi molekul dalam serum yang menetralkan dan menghancurkan antigen atau mikroorganisme penyebab infeksi. Molekul ini dibentuk oleh sel B dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai reseptor permukaan untuk antigen dan sebagai antibodi yang disekresikan ke dalam cairan ekstraseluler. Imunoglobulin memiliki banyak persamaan dalam hal struktur dan sifat biologiknya, berbeda dalam susunan asam amino yang membentuk molekulnya. Antibodi yang dibentuk sebagai reaksi terhadap salah satu jenis antigen mempunyai susunan asam amino yang berbeda dengan antibodi yang dibentuk terhadap antigen lain dan masing-masing hanya dapat berikatan dengan antigen yang relevan dan antibodi berfungsi sebagai adaptor yang mengikat antigen melalui *binding sitenya* yang spesifik.

Ceplukan mengandung asam klorogenat, asam citrun, fisalin, alkaloid dan polifenol. Menurut Wagner, senyawa alkaloid, polifenol dan plavonoid bersifat

imunostimulator.

Injeksi suatu substansi asing ke dalam binatang yang mampu membuat respon imun akan menghasilkan antibodi spesifik yang muncul dalam serum sesudah beberapa waktu berlangsung. Imunogen tersebut akan menyebabkan pengiriman sinyal pada sel-sel yang bertugas untuk membuat antibodi. Antigen yang digunakan dalam penelitian ini adalah sel darah merah domba (SDMD) karena merupakan antigen yang terbaik untuk pengujian produksi antibodi pada hewan percobaan mencit, keutamaan SDMD dari antigen yang lain adalah SDMD mudah diperoleh dalam suspensi yang uniform dan dapat diukur, cukup stabil dan lisisnya dapat dilihat dengan mudah. Pengamatan dengan melihat aglutinasi yaitu pengenceran tertinggi dari serum darah mencit yang masih memberikan reaksi aglutinasi positif. Aglutinasi terjadi bila antigen yang berbentuk partikel direaksikan dengan antibodi spesifik. Antibodi tersebut disebut spesifik jika hanya bereaksi dengan antigen yang merangsang produksinya. Gumpalan yang terbentuk antara antigen dan antiserum spesifik akan bersatu dan akhirnya mengendap sebagai gumpalan-gumpalan besar dan mudah terlihat dengan cairan di atasnya tetap jernih. Hal ini terjadi karena pada umumnya antibodi memiliki lebih dari satu reseptor pengikat

antigen sehingga antibodi bereaksi dengan molekul antigen lain yang mungkin berikatan dengan salah satu molekul antibodi dan terbentuklah gumpalan. Reaksi aglutinasi dibantu oleh suhu yang tinggi (37°C), oleh gerakan yang menambah kontak antigen dan antibodi (misalnya mengocok, mengaduk dan memusing) dan dengan adanya larutan yang mengandung garam (PBS) menyebabkan berkumpulnya gumpalan.

Bila antigen pertama kali masuk ke dalam tubuh, terjadilah respon imun primer yang ditandai dengan dihasilkannya IgM beberapa hari setelah pemaparan. Sebaliknya IgG mulai diproduksi 6 – 7 hari setelah pemaparan antigen oleh karena itu pengambilan darah untuk pengukuran IgM dilakukan 5 hari setelah pemberian SDMD atau pemaparan antigen.

Dari hasil pengamatan titer aglutinasi, menunjukkan peningkatan aktivitas immunoglobulin M (IgM). Hal ini dapat dilihat pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol daun Ceplukan (*Physalis minima* Linn.) dengan konsentrasi 4%, 8% dan 12% b/v titer immunoglobulin rata-rata masing-masing sebesar 1/32, 1/128 dan 1/64 sedangkan kelompok perlakuan kontrol, rata-rata titer immunoglobulinnya hanya 1/8.

Titer immunoglobulin M (IgM) dari serum darah mencit yang diberikan ekstrak daun Ceplukan mengalami peningkatan

tertinggi pada konsentrasi 8% b/v dimana titer naik enam belas tingkat pengenceran dibanding kontrol tetapi seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, titer mengalami penurunan bahkan pada pemberian dengan konsentrasi 12% b/v titer yang diperoleh hanya sebesar delapan tingkat pengenceran dibanding kontrol. Hal ini diduga disebabkan karena respon imun sangat ditentukan oleh kesetimbangan jumlah antigen dan antibodi. Apabila jumlah dari antigen atau antibodi tidak seimbang (salah satu diantaranya berlebihan) maka pembentukan antibodi akan terganggu.

Berdasarkan pengamatan pengenceran tertinggi dari serum darah mencit yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba 2% memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Ceplukan memberikan efek terhadap peningkatan aktivitas Immunoglobulin M (IgM) dan peningkatan aktifitas Immunoglobulin M (IgM) karena terjadi peningkatan titer.

PENUTUP

Kesimpulan

Ekstrak etanol daun Ceplukan (*Physalis minima* Linn.) dapat meningkatkan aktivitas Immunoglobulin M (IgM). Konsentrasi minimal ekstrak etanolik daun ceplukan yang dapat meningkatkan aktivitas IgM pada mencit

adalah 4%, 8% dan 12%.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis haturkan kepada Rektor Universitas Muslim Indonesia (UMI) Makassar dan Kepala LP2S Universitas Muslim Indonesia (UMI) Makassar

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, K.A., Lichtman, A.H. dan Pillai, S., 2007, *Celluler and Moleculer Immunology* 6th Ed, Saunders, USA.
- Baratawidjaja, K. G., 2004, *Imunologi Dasar*, edisi ke-5, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Ma'at, S., 2010, Imunomodulator Manfaat dan Bahayanya, dalam *Seminar Nasional Farmasi 2010*, Stipar "Yayasan Pharmasi, Semarang. 26.
- Siyok, D., "Morel Berry, Obat Kencing Manis", ([http : // www.dayakologi.com/kr/ind/2002/87/kesehatan.html](http://www.dayakologi.com/kr/ind/2002/87/kesehatan.html). Diakses 31 Januari 2012).
- Soekamanto, A., M.A. Subroto, H. Wijaya dan P. Simanjuntak., 2010. Anti-cancer activity for extracts of sarang semut plant (*Myrmecodia pendens*) to HeLa and MCM-B2 cells, Pakistan *J. Biol. Sci.*, 13(3): 148-151.
- Wijayakusuma, H., (2004), *Bebas Diabetes Mellitus ala Wijayakusuma*, Penerbit Puspa Swara, Jakarta.
- Winarno, M., (2003), "Penelitian Aktivitas Biologik Infus Benalu Teh (*Scurulla atropurpurea* Bl. Danser) Terhadap Aktivitas Sistem Imun Mencit", [Http://www.kalbefarma.com](http://www.kalbefarma.com), diakses 20 Desember 2011.