

PHARMACOGNOSY

ADLN PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

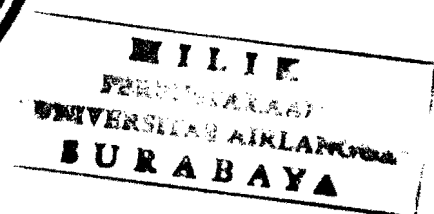
KK B  
KK  
10-201  
Kus  
R-2

**UJI HEMAGLUTINASI IMUNOGLOBULIN M DAN PENETAPAN  
KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL DAUN  
GRATOPHYLLUM PICTUM (L.) GRIFF.**

3000275973141 ✓

**Ketua Peneliti :**

**Idha Kusumawati, S.Si.**



**LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**Dibiayai Oleh : DRK DPP Unair 1996/1997  
SK.Rektor Nomor : 6230/JO3/LP/1996  
Nomor : 36**

**SELESAI**  
IDHA KUSUMAWATI

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

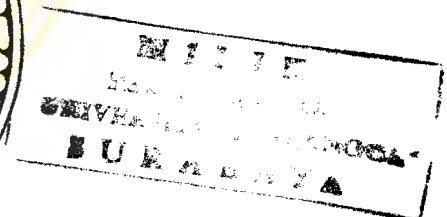
UJI HEMAGLUTINASI IMUNOGLOBULIN M DAN PENETAPAN  
KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL DAUN  
GRAPTOPHYLLUM PICTUM (L.) GRIFF.

3000275973141

TIM PENELITI :

Idha Kusumawati, S.Si  
Dr. Wahjo Dyatmiko  
Dr. Mulja Hadi Santosa

Pusat Penelitian Obat Tradisional



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
JL. Dharmawangsa Dalam 2 Surabaya 60286 Telp. 031 5342322  
Dibiayai : SPP/DPP Tahun 1996/1997  
SK. Rektor Nomor : 6230/JO3/PL/96  
Tanggal 30 Juli 1996



DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**LEMBAGA PENELITIAN**

- |                                    |                                 |  |
|------------------------------------|---------------------------------|--|
| 1. Puslit dan Pembangunan Regional | 4. Puslit Lingkungan Hidup      | 8. Puslit Kependudukan dan Pembangunan |
| 2. Puslit Obat Tradisional         | 5. Puslit dan Pengembangan Gizi | 9. Puslit Bioenergi                    |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum       | 6. Puslit/Studi Wanita          | 10. Puslit/Studi Kesehatan Reproduksi  |
|                                    | 7. Puslit Olahraga              |  |

Jl. Darmawangsa Dalam No. 2 Telp. (031) 5342322 Fax. (031) 5342322 Surabaya 60286

IDENTITAS DAN PENGESAHAN  
 LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : Uji Hemaglutinasi Imunoglobulin M Dan Imunoglobulin G, Dan Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Metanol Daun Graptophyllum Pictum ( L ) Griff.T
- b. Macam Penelitian :  Fundamental,  Terapan,  Pengembangan  
 Institusional
- c. Kategori Penelitian :  I  II  III  IV
2. Kepala Proyek Penelitian
- a. Nama Lengkap Dengan Gelar : Idha Kusumawati, S.Si.
- b. Jenis Kelamin : W a n i t a
- c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata Muda/IIIa/132 133 958
- d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
- e. Fakultas/Jurusan/Puslit. : Puslit Obat Tradisional
- f. Univ./Inst./Akademi : Universitas Airlangga
- g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Fitokimia dan Fitofarmaka
3. Jumlah Tim Peneliti : 3 (tiga) orang
4. Lokasi Penelitian : Fakultas Farmasi Unair
5. Kerjasama dengan Instansi Lain
- a. Nama Instansi : -
- b. A l a m a t : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 6 (enam) bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : Rp 2.000.000,00
8. Seminar Hasil Penelitian
- a. Dilaksanakan Tanggal : 2 April 1997
- b. Hasil Penilaian  Baik Sekali  B a i k  
 S e d a n g  K u r a n g

Surabaya, 2 April 1997



Mengetahui/ Mengesahkan :  
 a.n. Rektor  
 Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. Noor Cholies Zaini  
 NIP. 130 355 372

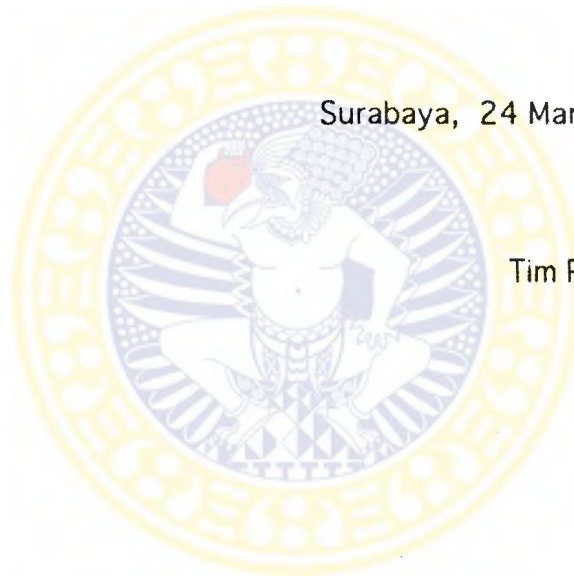
## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT atas terselesainya penelitian kami, yang dapat terlaksana atas dana SPP/DPP Universitas Airlangga. Dengan tulus kami sampaikan terimakasih kepada berbagai pihak yang telah terlibat dan membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

Semoga penelitian ini bermanfaat dan dapat menjadi langkah awal penelitian selanjutnya.

Surabaya, 24 Maret 1997

Tim Penelit.



## RINGKASAN PENELITIAN

Judul penelitian	: Pengaruh Daun Graptophyllum pictum (L.)Griff. Terhadap Respon Antibodi Primer Immunoglobulin M
Ketua Peneliti	: Idha Kusumawati
Anggota Peneliti	: Wahjo Dyatmiko Mulja Hadi Santosa
Fakultas/Puslit	: Pusat Penelitian Obat Tradisional
Sumber Biaya	: SPP/DPP Universitas Airlangga Tahun 1996/1997 SK. Rektor Nomor : 6229/JO3/PL/96 Tanggal : 30 Juli 1997

Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff.) banyak digunakan oleh masyarakat secara tradisional untuk pengobatan bengkak, bisul, wasir dan untuk melancarkan menstruasi [Heyne.1987]. Ozaki dan kawan-kawan telah membuktikan aktivitasnya sebagai antiinflamasi [Ozaki.1989].

Inflamasi adalah respon protektif yang sangat diperlukan dalam tubuh sebagai upaya untuk mengembalikan ke keadaan sebelum kerusakan atau untuk memperbaiki sesudah terjadi kerusakan [Bellanti.1993]. Namun demikian, perlu diketahui bahwa jika respon inflamatoris menyimpang dari kebiasaan, dapat terjadi masalah yang serius. Banyak penyakit yang dihadapi para klinisi disebabkan karena respon inflamasi yang tidak terkendali, misalnya pada rheumatoid arthritis dan pulmonaris fibrosis. Pengobatan dari penyakit-penyakit tersebut adalah dengan terapi antiinflamasi.

Berkaitan dengan aktivitasnya sebagai antiinflamasi, penelitian ini adalah upaya untuk mengetahui aktivitas Daun Ungu terhadap respon imun khususnya pada pembentukan antibodi primer Immunoglobulin M. Pembentukan antibodi primer dapat diketahui dengan uji hemaglutinasi terhadap antigen sel darah merah domba.

Disamping itu, dari penelitian yang dilakukan oleh Ozaki dapat diketahui bahwa fraksi yang aktif sebagai antiinflamasi diduga mengandung flavonoid. Untuk itu pada penelitian ini juga dilakukan penetapan kadar flavonoid total yang terdapat dalam ekstrak etanol yang digunakan, dengan menggunakan metode spektrofotometri dari Farmakope Swiss VII.

Dosis imunologis yang digunakan adalah 0,2 ml suspensi ekstrak etanol Daun Ungu 1,02% yang setara dengan infus 10%, dengan pemberian per-oral selama 7 hari. Dari hasil penetapan kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol Daun Ungu diketahui bahwa kandungannya adalah 1,78%. Jadi dosis yang digunakan mengandung 0,036 mg flavonoid total per mencit per hari.

Pemberian ekstrak etanol Daun Ungu yang diberikan secara per-oral selama 7 hari ternyata tidak mempengaruhi titer aglutinasi. Hal ini berarti pemberian ekstrak etanol tersebut tidak mempengaruhi pembentukan antibodi primer imunoglobulin M pada mencit.



## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR .....	ii
RINGKASAN PENELITIAN .....	iii
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	vi
1. PENDAHULUAN .....	1
1. Latar Belakang Masalah .....	1
2. Rumusan Masalah .....	3
3. Tujuan Penelitian .....	3
4. Kontribusi Penelitian .....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
1. Tinjauan tentang <i>Graptophyllum pictum</i> (L.) Griff.....	5
1.1. Klasifikasi .....	5
1.2. Nama Daerah .....	5
1.3. Morfologi .....	6
1.4. Kegunaan sebagai obat tradisional .....	7
1.5. Kandungan tanaman .....	7
2. Tinjauan tentang Imunologi .....	8
3. Tinjauan tentang metode hemaglutinasi IgM .....	11
4. Tinjauan tentang flavonoid .....	12
5. Tinjauan tentang penetapan kadar flavonoid total .....	13
3. METODOLOGI PENELITIAN .....	14
1. Pembuatan Ekstrak Bahan .....	14
2. Penetapan Kadar Total Flavonoid secara Spektroskopi .....	14
3. Preparasi sediaan untuk pemberian per-oral .....	15
4. Perlakuan Hewan Coba .....	16
5. Uji Hemaglutinasi .....	16
6. Analisa Hasil .....	17
4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	18
5. SIMPULAN DAN SARAN .....	22
DAFTAR PUSTAKA .....	23

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Kandungan flavonoid total ekstrak etanol Daun Ungu dengan metode Spektrofotometri dari Farmakope Swiss VII .....	18
Tabel 4.2. Titer aglutinasi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan .....	20





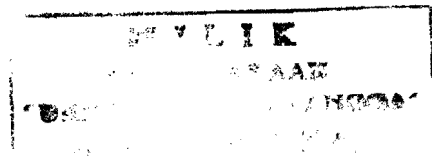
# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1. LATAR BELAKANG MASALAH

Sebagai negara yang kaya akan bahan alam, Indonesia sebenarnya mempunyai potensi dalam hal mengembangkan obat-obatan tradisional maupun pengadaan senyawa obat baru. Salah satu tanaman obat yang sering digunakan dalam pengobatan adalah *Graptophyllum pictum* (L) Griff (Jawa : Daun Ungu), yang secara tradisional digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan bengkak, bisul, wasir dan untuk melancarkan menstruasi [Heyne.1987]. Berdasarkan etnomedisin, penggunaannya sebagai pengobatan bengkak, bisul dan wasir tersebut mengarah pada pemanfaatan sebagai imunomodulator.

Efek antiinflamasi Daun Ungu telah dibuktikan oleh Ozaki dkk. dengan metode penghambatan edema yang diinduksi oleh carragenin, penurunan *writhing* yang diinduksi oleh asam asetat, dan peningkatan permeabilitas vaskular yang diinduksi oleh asam asetat. Hasil fraksinasi ekstrak etanol yang larut air dan mempunyai aktivitas antiinflamasi diduga mengandung Flavonoid [Ozaki.1989].



Inflamasi adalah reaksi tubuh terhadap masuknya benda asing, invasimikroorganisme atau kerusakan jaringan. Reaksi inflamasi dimaksudkan untuk melokalisir infeksi dan memudahkan eliminasi patogen [Bellanti.1993]. Aspek imunologi, umumnya terkait secara menyeluruh dengan terapi infeksi. Respon imun yang timbul akibat suatu infeksi dapat merupakan suatu pisau bermata dua, karena pada suatu keadaan memberikan proteksi terhadap adanya invasi benda asing, tetapi pada hal-hal tertentu dapat menyebabkan keadaan yang merugikan misalnya adanya reaksi inflamasi yang menimbulkan rasa sakit dan panas. Di samping itu juga, bila respon inflamasi menyimpang dari kebiasaan, dapat terjadi masalah yang serius. Banyak penyakit yang dihadapi para klinisi disebabkan respon inflamasi yang tidak terkendali, misalnya kerusakan sendi pada rheumatoid arthritis, pulmonaris fibrosis dan psoriasis. Pengobatan dari penyakit-penyakit tersebut adalah terapi dengan antiinflamasi [Bellanti.1993].

Berdasarkan keterkaitan aspek imunologis dengan aktivitasnya sebagai antiinflamasi, maka Daun Ungu diperkirakan mampu menghambat respon imunologis. Uji aktivitas imunologi tanaman obat dapat dimulai dari uji penapisan yang antara lain : pengaruhnya pada pembentukan antibodi primer, pengaruhnya terhadap sel-sel fagosit, pengaruhnya terhadap sel-sel

limfosit dan pengaruhnya terhadap sistem komplemen. Untuk setiap sistem dicari metode yang mudah dan sederhana namun dapat menyimpulkan apakah bahan tersebut mempunyai potensi pada sistem imun atau tidak [Labadie.1989 ; Wagner.1989]. Salah satu uji yang akan dilakukan adalah uji respon imun spesifik yaitu uji hemaglutinasi Imunoglobulin M (imun humoral).

Sedangkan dari hasil penelitian Ozaki dkk. maka juga dilakukan penetapan kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol Daun Ungu yang digunakan.

## 2. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang tersebut timbul permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah pemberian ekstrak etanol Daun Ungu secara per-oral pada mencit dapat menghambat pembentukan antibodi primer IgM ?
2. Berapakah kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol Daun Ungu yang digunakan ?

### 3. TUJUAN PENELITIAN

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L) Griff ) secara per-oral pada mencit terhadap respon imun khususnya pada pembentukan antibodi primer (Imunoglobulin M) dan penetapan kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol.

### 4. KONTRIBUSI PENELITIAN

Dengan diperolehnya data ilmiah mengenai pengaruh ekstrak etanol Daun Ungu ( *Graptophyllum pictum* (L) Griff ) terhadap sistem imun, maka penggunaan secara tradisional dari Daun Ungu tidak hanya secara empiris tetapi dapat dipertanggung jawabkan secara laboratoris. Manfaat yang lebih jauh lagi adalah bahwa Daun Ungu dapat digunakan sebagai alternatif untuk pengobatan inflamasi.

Dengan diketahuinya kadar total flavonoid dalam ekstrak etanol Daun Ungu, dapat digunakan sebagai dasar standarisasi untuk pengembangan ke arah pembuatan sediaan jadi yang mengandung ekstrak etanol Daun Ungu.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1. Tinjauan tentang *Graptophyllum pictum* (L.) Griff.

##### 1.1. Klasifikasi [Backer.1968]

Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Anak Kelas	: Sympetalae
Bangsa	: Solanales
Suku	: Acanthaceae
Marga	: <i>Graptophyllum</i>
Jenis	: <i>Graptophyllum pictum</i> (L.) Griff.

##### 1.2. Nama Daerah [Heyne.1987]

Melayu	: Dangora, daun putri, puding, puding perada
Sunda	: Daun Ungu, daun temen-temen, handeleum
Jawa	: Demung, tulak, wungu
Madura	: Karaton, karotong
Bali	: Temen, Kabi-kabi (Ternate)

### 1.3. Morfologi

Tanaman ini berupa perdu tegak atau kecil, tingginya mencapai 1,5 - 3 m. Biasanya dijumpai di dataran rendah sampai 1250 m di atas permukaan laut, di tempat-tempat terbuka dengan iklim kering atau lembab. Sering dimanfaatkan sebagai tanaman pagar. Tumbuhan ini dengan mudah dapat disebarluaskan dengan cara stek, tumbuh cepat dan tidak banyak memerlukan perawatan.

Daun letaknya berhadapan, bentuk lonjong atau lanset, melancip panjang atau pendek, tepi daun rata atau berombak. Ukuran panjang sampai 20 cm, lebar 3 sampai 13 cm, tangkai daun 0,5 - 1 cm.

Bunganya berwarna merah tua, tersusun dalam rangkaian berupa tandan yang tumbuh pada ujung tangkai. Bunga seluruhnya atau sebagian besar tersusun dalam suatu panikula bagian terminal yang panjangnya 3 sampai 12 cm. Setiap panikula terdiri dari simosa-simosa kecil dalam kedudukan berhadapan yang terdapat sepanjang rakis utama. Buahnya kotak yang bentuknya jorong, berisi 2 biji yang bentuknya bulat [Heyne.1987].

#### 1.4. Kegunaan sebagai obat tradisional

Kulit tanaman ini ditumbuk dan diletakkan pada berbagai bengkak baru, dapat melenyapkan bengkak tersebut. Oleh perempuan-perempuan Ternate sangat dihargai sebagai obat untuk menyembuhkan bisul, daun itu sebelumnya diolesi santan kelapa lalu dipanaskan di atas api, kemudian diletakkan di tempat yang sakit. Daun-daun ini digiling hingga menjadi bubur, dipandang lebih cocok untuk mematangkan bengkak dan bisul yang panas. Demikian pula di Jawa, daun ini mempunyai reputasi yang besar sebagai obat untuk menyembuhkan bawasir, dan bunganya diminum seperti teh untuk melancarkan menstruasi [Heyne.1987].

#### 1.5. Kandungan Tanaman

*Graptophyllum pictum* (L.) Griff. mengandung tanin, alkaloid, sitosterol dan glikosida [Hegnauer.1964]. Juga mengandung flavonoid dan polifenol. Dan pada penelitian terdahulu yang telah dilakukan pada daun tanaman ini ditemukan adanya steroida [Farida.1986].

## 2. Tinjauan tentang Imunologi

Antibodi adalah produk dari elemen sel B mempunyai kemampuan untuk bereaksi dengan benda-benda yang merangsang pembentukan imunitas atau antigen.

Antibodi berhubungan dengan 5 kelompok protein utama (imunoglobulin) yang dapat didiferensiasi satu sama lain atas dasar, ukuran molekul, fungsi biologik atau sifat-sifat kimianya. Adanya antibodi ditentukan dengan mengukur beberapa parameter fungsional dari interaksi antara antigen dan antibodi.

Imunoglobulin merupakan kumpulan molekul-molekul protein yang menarik perhatian, yang merupakan moleku-molekul pelaksana imunitas humoral dan aktivator komplemen untuk jalur klasik. Protein-protein ini mempunyai banyak kesamaan antigenik, struktural dan biologik, tetapi juga mempunyai perbedaan-perbedaan yang penting dalam rantai asam amino primernya, yang memungkinkan fungsi dan aktivitas biologik antibodinya menjadi sangat spesifik untuk peranannya dalam pertahanan tubuh.

Terdapat lima kelas imunoglobulin yang berbeda, masing-masing dengan struktur kimia dan peran biologi spesifik yang berbeda. Kelas-kelas ini ditandai dengan huruf G, A, M, D dan E di belakang singkatan Ig. IgG adalah imunoglobulin yang paling berlimpah. Molekul ini mencapai konsentrasi



yang berarti baik intravaskular maupun ekstrasvaskular dan mempunyai waktu paro relatif lama (23 hari), dapat melintasi plasenta dan dapat mengaktifkan komplemen. Kelas imunoglobulin ini diduga membantu imunitas melawan beberapa agen infeksi yang disebarkan melalui darah seperti bakteri, virus, parasit dan beberapa jamur.

Meskipun IgA nomor dua dalam jumlah serum imunoglobulin, mempunyai peranan penting pada imunitas sistem sekretoris eksternal. Molekul-molekul IgA tidak mengaktifkan komplemen melalui cara klasik. IgM adalah molekul imunoglobulin yang terbesar ukurannya, sehingga hampir seluruhnya berada di intravaskular. Makromolekul ini adalah suatu aglutinator antigen-antigen tertentu yang sangat efisien, seperti bakteri, sel darah merah dan dapat mengikat komplemen dengan tingkat efisien yang tinggi. Imunoglobulin ini diduga sangat penting pada hari-hari pertama respon imun primer. Bilamana antigen asing dikenalkan ke dalam hospes untuk pertama kalinya, sintesis antibodi IgM mendahului IgG. Namun kadar antibodi IgM mencapai puncaknya dalam beberapa hari, dan kemudian menurun lebih cepat dari kadar antibodi IgG.

Kelas keempat imunoglobulin adalah IgD yang ditetapkan sebagai reseptor permukaan spesifik pada permulaan respon imun. Sedangkan IgE adalah imunoglobulin yang ada dalam serum dengan kadar yang rendah

sekali, mempunyai kemampuan untuk terikat pada kulit manusia dan memulai aspek-aspek reaksi alergi [Bellanti.1993].

Respon imun humoral terhadap rangsangan imunogenik menghasilkan antibodi dalam sirkulasi termasuk satu atau lebih diantara lima kelas imunoglobulin : IgM, IgG, IgD, IgA dan IgE. Bukti adanya respon ini dapat diperoleh dari beberapa respon serologi misalnya : presipitasi, aglutinasi, fagositosis, sitotoksitas dan netralisasi toksin [Bellanti.1993 ; Hokama.1982].

Interaksi antigen-antibodi dapat dibagi dalam tiga kategori yaitu primer, sekunder dan tersier. Interaksi primer atau interaksi awal antigen dengan antibodi adalah suatu kejadian dasar yang terdiri dari pengikatan molekul antigen dengan molekul antibodi. Karena interaksi ini jarang dapat terlihat, deteksi biasanya dikerjakan dengan reaksi-reaksi sekunder, yang merupakan alat bantu untuk memvisualisasikan reaksi, misalnya presipitasi. Sedangkan reaksi tersier merupakan ekspresi biologik dari interaksi antigen-antibodi yang berguna untuk merusak. Manifestasi sekunder interaksi antigen-antibodi penting, karena merupakan dasar dari sejumlah uji laboratorium yang digunakan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi antigen, antibodi atau kompleks antigen-antibodi yang terlibat dalam proses-proses penyakit [Subowo.1993].

### 3. Tinjauan tentang metode hemaglutinasi IgM

Respon antibodi primer dan sekunder dapat dibedakan secara kualitatif maupun kuantitatif dalam berbagai aspeknya. Respon antibodi primer dihasilkan oleh rangsangan terhadap sel-sel B yang belum pernah terangsang sama sekali, sedangkan respon sekunder berasal dari klon-klon sel B yang telah berubah bentuk dan terhadap sel-sel memori. Oleh karena itu respon sekunder terbentuk lebih cepat dibandingkan respon primer, dan jumlah antibodi yang diproduksi juga jauh lebih besar.

Pada respon antibodi primer, kelas antibodi yang dominan adalah kelas IgM, karena sel B "resting" mensekresi molekul IgM. Sedangkan pada respon sekunder, antibodi yang terbentuk terutama adalah IgG.

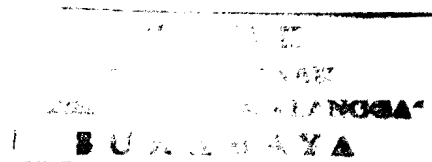
Pengujian terhadap respon imun humoral spesifik, ditujukan terhadap respon sel B dalam memberikan tanggapan terhadap rangsangan antigen. Pengujian terhadap produksi antibodi dapat diamati berdasarkan jumlah antibodi yang terbentuk yang beredar dalam sirkulasi. Melalui sampel serum, dapat diuji titer antibodi primer (IgM), dengan menggunakan metoda serologi yang sesuai [Dey.1991 ; Hyde.1987].

#### 4. Tinjauan tentang flavonoid

Sejumlah tanaman obat, termasuk berbagai tumbuhan yang digunakan pada pengobatan alamiah, menggunakan kandungan flavonoidnya. Dalam "Pharmazeutische Biologie"(Sneider) dikatakan bahwa setengah dari obat-obatan yang digunakan dalam pengobatan tradisional dan berhasil menyembuhkan, mengandung flavonoid. Sedangkan dalam "Drogenanalyse"(Wagner, Bladt and Zgainski) terdapat daftar tumbuhan yang mengandung flavonoid yang telah digunakan secara terapeutik [Wollenweber.1988].

Flavonoid yang merupakan derivat 2-fenil benzo- $\psi$ -piron, tersebar luas secara alamiah dan merupakan pigmen yang penting untuk pertumbuhan normal, perkembangan dan pertahanan bagi tumbuhan. Berdasarkan pola substitusi cincinnya dan titik penjumlahan cincin benzopiron, flavonoid dapat dibedakan menjadi : flavanon, flavon, isoflavon, antosianin, kalkon dan auron.

Studi mengenai struktur flavonoid telah menunjukkan bahwa satu jenis flavonoid dapat memberikan lebih dari satu respon, tergantung pada titik tangkap enzimnya, sehingga dengan adanya penyebaran efek tersebut, dapat mendukung flavonoid sebagai zat terapeutik baru untuk pengobatan penyakit [Cody.1988].



## 5. Tinjauan tentang penetapan kadar flavonoid total

Flavonoid tersebar luas dan biasanya berada dalam bentuk glikosida, tetapi sangat sulit untuk menentukan kandungan glikosidanya dalam ekstrak tanaman. Hidrolisa glikosida dan deteksi spektrofotometrinya sebagai kelat Aluminium klorida merupakan metode yang banyak digunakan untuk menentukan kandungan flavonoidnya. Metode yang tercantum dalam Pharmacopoeia Swiss VII dan Pharmacopoeia German tersebut dapat mengukur kadar total flavonoid dalam tanaman [Tschan.1993 ; Rehwald. 1993].



## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 1. Pembuatan Ekstrak Bahan

Daun *Graptophyllum pictum*(L) Griff. dikeringkan (tidak dengan sinar matahari langsung). Daun kering tersebut diserbuk dengan menggunakan mesin penggiling.

Serbuk daun kering diekstraksi dengan etanol dengan cara digesti (dimaserasi dengan pemanasan 45°C) selama 3 x 24 jam. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan dengan menggunakan penurunan tekanan sampai didapat ekstrak etanol kering.

#### 2. Penetapan kadar total Flavonoid secara Spektrofotometri ( Farmakope Swiss VII )

##### a. Penyiapan larutan induk

0,02 g ekstrak + 1 ml larutan Heksametilentetramin 0,5% dalam H<sub>2</sub>O + 20 ml Aseton + 2 ml larutan HCL 25% dalam H<sub>2</sub>O, direfluks selama 30 menit. Setelah dingin, dimasukkan dalam labu ukur 100 ml dan ditambah Aseton sampai 100.0 ml.

Diambil 20,0 ml larutan tersebut + 20 ml H<sub>2</sub>O, dan diekstraksi kocok

dengan 15 ml dan 3 x 10 ml Etil asetat. Ekstrak dicampur, dicuci dengan H<sub>2</sub>O 50 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml dan ditambah Etil asetat sampai 50,0 ml.

**b. Penyiapan sampel**

Diambil 10,0 ml larutan induk + 1 ml larutan AlCl<sub>3</sub> 2% dalam larutan Asam asetat glasial-Metanol (1:19), dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml, ditambah larutan Asam asetat glasial-Metanol (1:19) sampai 50,0 ml.

**c. Penyiapan standar**

Diambil 10,0 ml larutan induk, dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambah larutan Asam asetat glasial-Metanol (1:19) sampai 50,0 ml.

**d. Pengukuran**

Setelah 30 menit, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 425 nm.

**3. Preparasi sediaan untuk pemberian peroral**

Belum ada ketentuan baku mengenai dosis pemakaian tanaman obat

untuk pengujian sebagai imunomodulator [Dey.1991]. Oleh karena itu, dosis yang digunakan mengacu pada dosis imunomodulator yaitu 0,2 ml infus 10% [Maat.1997]. Jadi untuk sediaan peroral, ekstrak etanol kering tersebut dibuat suspensi dalam 0,5% CMC Na yang diperhitungkan setara dengan 0,2 ml infus 10%.

#### 4. Perlakuan hewan coba

Hewan coba yang digunakan adalah mencit putih *Mus musculus* jantan dewasa dengan berat 25 -35 g, dengan kondisi sehat dan tidak ada kelainan pada tubuhnya. Mencit tersebut dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok terdiri dari 8 ekor. Sebelum diberi perlakuan, mencit diadaptasikan dengan lingkungannya selama 1 minggu. Masing-masing kelompok mendapat perlakuan dengan masing-masing dosis sediaan coba setiap hari secara peroral selama 7 hari.

#### 5. Uji Hemaglutinasi IgM

Pada hari pertama perlakuan, mencit diimunisasi dengan suspensi sel darah merah domba (SRBC) secara intraperitoneal (2% sejumlah 0,1 ml). Pada hari ke-5 darah diambil secara intrakardial secukupnya, kemudian



dipisahkan serumnya secara sentrifugasi. Pada papan mikrotiter ("96 multiwellplate) dilakukan pengenceran serum secara "double dilution", sejumlah 100  $\mu$ l dengan replikasi 5 kali. selanjutnya pada setiap lubang ditambah 100  $\mu$ l sel darah merah domba (100 juta sel/ml), diaduk rata (digoyang-goyang) selama 5 menit, kemudian diinkubasi pada 37°C selama 30 menit dan akhirnya dibiarkan semalam pada suhu kamar. Esok harinya dilakukan pengamatan aglutinasi yang terbentuk. Titer aglutinasi (hemaglutinasi) adalah pengenceran kelipatan terbesar yang masih teramati aglutinasinya (sebagai data nilai pangkat dari angka 2).

#### 6. Analisa Hasil

Untuk menganalisa hasil pengujian digunakan uji t (*Student t-test*) untuk sampel kecil pada  $\alpha = 0,05$ .

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 500 g serbuk daun kering Daun Ungu yang diekstraksi dengan cara digesti diperoleh 51 g ekstrak etanol kering. Sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Ozaki dkk. yang mengemukakan bahwa fraksi yang aktif sebagai antiinflamasi diduga mengandung flavonoid, maka dilakukan penetapan kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol yang diperoleh.

Kandungan flavonoid total dalam ekstrak etanol dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 4.1. Kandungan flavonoid total ekstrak etanol Daun Ungu dengan metode spektrofotometri dari Farmakope Swiss VII

Berat ekstrak (g)	Absorbansi	%
0,24	0,35	1,8
0,22	0,30	1,73
0,20	0,29	1,81
0,21	0,34	1,76
0,21	0,30	1,76
0,21	0,31	1,84

Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa kandungan ekstrak etanol Daun Ungu yang digunakan adalah sebesar 1,78%.

Dosis yang digunakan pada penelitian ini adalah 0,2 ml suspensi ekstrak etanol Daun Ungu 1,02% yang setara dengan 0,2 ml infus 10% [Maat.1997] secara peroral selama 7 hari. Dosis ini mengandung 0,036 mg flavonoid total.

Injeksi satu dosis suatu substansi asing ke dalam binatang yang mampu membuat respon imun akan menghasilkan antibodi spesifik yang muncul dalam serum sesudah beberapa waktu berlangsung. Pemaparan pertama pada imunogen membangkitkan respon primer. Segera sesudah pengenalan dengan imunogen, sedikit antibodi atau tidak ada antibodi yang ditemukan dalam serum. Selama waktu tersebut imunogen dikenal sebagai benda asing, sinyal dikirim pada sel-sel yang bertugas untuk membuat antibodi.

Respon primer pada kebanyakan imunogen dikarakterisasi oleh antibodi Immunoglobulin M (IgM). Immunoglobulin merupakan kumpulan molekul-molekul protein pelaksana imunitas humoral. IgM adalah immunoglobulin yang terbesar ukurannya, sehingga hampir seluruhnya berada di intravaskular. Makromolekul ini adalah suatu aglutinator antigen-antigen tertentu yang sangat penting pada hari-hari pertama respon imun primer [Bellanti.1993].

Pada penelitian ini IgM yang terbentuk bersifat spesifik terhadap antigen sel darah merah domba (SDMD) yang bersifat T-dependent. Dipilihnya SDMD karena merupakan antigen yang terbaik untuk pengujian produksi antibodi pada hewan percobaan mencit [Hudson.1989]. Pengamatan hasil dilakukan dengan uji aglutinasi dengan antigen yang sama (SDMD), dengan melihat aglutinasi yang terjadi dan dihitung sebagai Titer aglutinasi yaitu pengenceran tertinggi dari serum yang masih memberikan reaksi aglutinasi positif.

Pengaruh pemberian peroral 0,2 ml suspensi ekstrak etanol Daun Ungu 1,02% selama 7 hari pada mencit yang diinjeksi dengan antigen SDMD dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 4.1. Titer aglutinasi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan Sediaan uji dosis 1,02% suspensi ekstrak etanol Daun Ungu dengan pemberian peroral selama 7 hari

Mencit	Titer aglutinasi	
	Kelompok kontrol	Kelompok perlakuan
1	32	32
2	16	32
3	32	16
4	64	64
5	32	16
6	16	64
7	32	8
8	128	16
rata-rata	44	31
SD	37,03	21,99

Dari tabel diatas tidak terlihat adanya perbedaan yang bermakna antara titer antibodi IgM dari kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan pada  $p=0,05$  (  $t$  hitung = 1,7 dan  $t$  tabel = 1,76 )

Mekanisme antiinflamasi yang digunakan harus diketahui dengan jelas, agar dapat menyeimbangkan supresi aktivitasnya yang menyimpang, yang diinginkan secara terapeutik, dengan kemungkinan supresi mekanisme pertahanan tubuh normal terhadap infeksi yang berbahaya.

Dari penelitian ini dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol Daun Ungu secara peroral tidak mempengaruhi respon antibodi primer, sehingga diharapkan sebagai antiinflamasi Daun Ungu tidak menurunkan kepekaan respon imun tubuh terhadap infeksi lain yang berbahaya. Namun tentunya masih terlalu dini untuk menyimpulkan hal ini. Untuk itu sangat perlu dilanjutkan penelitian mengenai pengaruh Daun Ungu terhadap sel-sel imunokompeten yang lain.

## BAB V

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 1. SIMPULAN

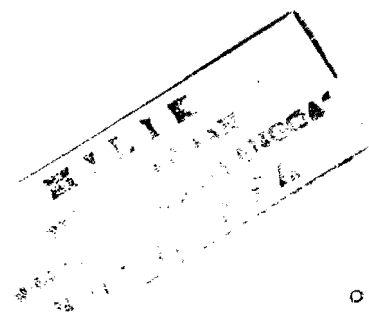
1. Ekstrak etanol Daun Ungu mengandung flavonoid total sebesar 1,78%
2. Pemberian peroral 0,2 ml suspensi ekstrak etanol Daun Ungu 1,02% yang mengandung flavonoid total 0,036 mg per-mencit tiap hari selama 7 hari tidak mempengaruhi pembentukan antibodi primer IgM pada mencit terhadap antigen sel darah merah domba

#### 2. SARAN

Diperlukan penelitian lanjutan mengenai pengaruh Daun Ungu pada sel-sel imunokompeten yang lain dan mengenai kandungan senyawa aktifnya.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Backer C.A. and Bakhuizen van den Brink R.C. 1968. Flora of Java. vol.ii. Wolters-Noordhoff N.V-Groningen the Netherlands, pp.578 -579
2. Bellanti J.A., 1993. Imunologi III, Diterjemahkan oleh Samik Wahab A.; Cetakan I, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, hal 96 - 125, 186 - 188
3. Cody V., 1988. Crystal and Molecular Structures of Flavonoids., Plant Flavonoids Biology and Medicine II, Alan R. Liss Inc., New York, p.29 -44
4. Dey P.M. Harborne J.B., 1991. Methods in Plant Biochemistry, vol 6, Academic Press, London, p.195 - 218
5. Faries C.T., Atkinson P.J., Evolution of The Complement System, Imunology to Day, 12 : 356 -364
6. FrankM.M., Fries F.L., The Role of Complement in Inflammation and Phagocytosis, Imunology to Day, 12 : 327-336
7. Heyne K., 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid III, Yayasan Sarana Wana Jaya, Departemen Kehutanan Republik Indonesia, Jakarta, hal 1756 - 1757
8. Hokama Y., Nakamura M.R., 1982. Immunology and Immunopathology Basic Concept, 1 th edition, Little Brown and Co., Boston, pp. 135 - 137, 185 - 187, 192 -245



9. Janeaway A., Charles Jr., 1993. How The Immune System Recognizes Invaders, Scientific American, 5: 123 - 125
10. Kinoshita T., 1991. Biology of Complement : The Overture, Immunology to Day, 12 : 367-372
11. Labadie R.P., Van der Nat J.M., Simons J.M., et al., 1989. An Ethnopharmacognostic Approach to The Search for Immunomodulators of Plant Origin, Planta Medica, 55 : 339 -348
12. Ozaki Y., Sekita S., Soedigdo S., Harada M., 1989. Anti inflammatory Effect Of *Graptophyllum pictum* (L) Griff., Chemical Pharmaceutical Bulletin, 37 : 2799 - 2802
13. Platt-Mills T., Ishizaka K., 1993. Activation of The Alternative Pathway of Human Complement by Rabbit Cells, The Journal of Immunology, 113 : 271 - 273
14. Rehwald A., Meier B., Mutsch M., Sticher O., 1993. HPLC Analysis of the Flavonoids of *Crataegi folium cum flore*, Planta Medica, vol 59, 1993, p.A628-A629
15. Stites D.P., Stobo J.D., Fudenberg H.H., 1984. Basic and Clinical Immunology 5 ed, Lange Medical Publisher, California, p. 159 -160
16. Subowo, 1993. Imunologi Klinik, Cetakan Ke I, Penerbit Angkasa, Bandung, hal. 227-229



**PAMERAN****16 DEC 1997**

25

17. Tschan G.M., Sticher O., 1993. Quantitative Analysis of Flavonoids in Roman Chamomile by RP-HPLC, Planta Medica, 59 : A628
18. Wagner H., Search for New Plant Constituent with Potential Anti Phlogistic and Anti Allergy Activity, Planta Medica, 55 : 235 - 241
19. Wollenweber E., 1988. Occurrence of Flavonoid Aglycones in Medicinal Plants., Plant Flavonoids Biology and Medicine II, Alan R. Liss Inc., New York, p.45-55

