

AKTIFITAS IMUNOMODULATOR DAN JUMLAH SEL LEUKOSIT DARI EKSTRAK KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) PADA MENCIT PUTIH JANTAN

Havizur Rahman²⁾, Yufri Aldi¹⁾, Elda Mayanti²⁾

¹⁾ Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang.

²⁾ Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

Email: eldamayanti@gmail.com

ABSTRACT

The research of immunomodulatory activity and leucocyte cell counts of white male mice has been done by using red dragon fruit peel (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) extracts. Animals were divided into 4 groups, which consists of only one group was given a NaCMC suspension, 2, 3, and 4 group in extract red dragon fruit peel with a dose of 10 mg/kg BB, 50 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB. Extracts are given for 6 days orally. The result of research showed given the extract red dragon fruit peel orally of male mice for 6 days can improve the constants and phagocytosis index, and increasing the dose 100 mg/kg BB. The activity of the red dragon fruit peel extract also increased the counts of cells and the total counts of leukocytes was significantly ($P < 0,05$). A dose of 100 mg/kg BB is the best dose improve the immunomodulatory activity and leukocyte cell counts.

Keywords: *Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose, Immunomodulatory, Leukocyte Cell.

ABSTRAK

Uji aktifitas imunomodulator dan jumlah sel leukosit pada mencit putih jantan telah dilakukan dengan menggunakan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose). Hewan dibagi atas 4 kelompok, yang terdiri dari kelompok 1 hanya diberi suspensi NaCMC, kelompok 2,3,4 diberi ekstrak kulit buah naga merah dengan dosis 10 mg/kg BB, 50 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB ekstrak diberikan selama 6 hari secara oral. Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak kulit buah naga merah secara oral pada mencit putih jantan selama 6 hari dapat meningkatkan konstanta dan indeks fagositosis, dan semakin meningkat pada dosis ke 100 mg/kgBB. Pada aktifitas ekstrak kulit buah naga merah juga meningkatkan jumlah sel dan jumlah total sel leukosit secara signifikan ($P < 0,05$). Dosis 100mg/kg BB adalah dosis terbaik yang meningkatkan aktivitas imunomodulator dan jumlah sel leukosit.

Kata Kunci : *Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose, Imunomodulator, Sel Leukosit.

PENDAHULUAN

Upaya untuk meningkatkan sistem pertahanan tubuh menjadi penting dilakukan dalam rangka mempertahankan kondisi tubuh agar tetap sehat. Lingkungan disekitar mengandung bermacam-macam unsur yang bersifat patogen yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia. Infeksi yang terjadi pada manusia umumnya tidak berlangsung lama, dan setelah sembuh jarang menimbulkan kerusakan permanen. Hal ini disebabkan karena tubuh memiliki pertahanan sistem imun untuk melindungi tubuh dari unsur-unsur patogen tersebut. Dalam pandangan modern sistem imun

mempunyai tiga fungsi utama yaitu pertahanan (*defense*), homeostasis, dan pengawasan (*surveillance*) (Darwin, 2006).

Imunomodulator adalah senyawa yang dapat meningkatkan pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non spesifik. Penggunaan imunomodulator dalam terapi kadang kala mengalami hambatan. Diantara hambatan yang sering kali muncul adalah mahalnya imunomodulator yang tersedia di pasar obat dalam bentuk paten, yang mayoritas diimpor dari luar negeri. Dalam keadaan demikian, sangatlah perlu dipertimbangkan untuk memperoleh

imunomodulator dari bahan alam agar faktor harga dapat ditekan (Bellanti, 1993).

Indonesia sangat kaya akan sumber keanekaragaman hayati yang menyediakan berbagai bahan baku obat-obatan. Keadaan ini sangat berguna dalam mengatasi berkembangnya berbagai macam penyakit yang mengancam kehidupan manusia. Salah satu diantaranya yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar beragam pangan fungsional yang bermanfaat bagi kesehatan adalah kulit buah naga merah (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) (Wisesa & Widjanarko, 2014).

Buah naga yang populer di Indonesia memiliki dua varian, yaitu buah naga merah dengan daging buah berwarna merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan buah naga putih dengan daging buah berwarna putih (*Hylocereus undatus*). Buah naga merah memiliki kemampuan anti radikal yang lebih tinggi dibandingkan buah naga putih (Choo & Yong, 2011). Tingkat konsumsi buah naga yang semakin meningkat, berdampak terhadap sisa kulit yang menyebabkan pencemaran lingkungan yang masih sangat jarang dimanfaatkan. Kulit buah naga mengandung betasanin \pm 186,90 mg/100 g dan aktivitas antioksidan \pm 53,71 % (Pribadi, et al., 2014). Diketahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah naga (IC₅₀ 0,3 mg/mL) lebih tinggi daripada aktivitas antioksidan pada daging buahnya (IC₅₀ > 1 mg/mL) (Nurliyani, et al., 2010). Kulit buah naga mempunyai sifat antioksidan yang kuat karena mengandung polifenol yang tinggi yang terdiri dari senyawa β -Amirin (15,87%), α -Amirin (13,90%), oktakosan (12,2%), dan γ -sitosterol (9,35%). Polifenol ini berperan melindungi sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas dengan cara mengikat radikal bebas sehingga dapat mencegah terjadinya proses inflamasi (Luo, et al., 2014).

Sejauh ini penelitian farmakologi dari ekstraksi kulit buah naga merah yang telah

dilakukan, diantaranya: penelitian antioksidan daging buah dan kulit buah naga (Nurliyani, et al., 2010), formulasi tablet effervescent berbahan baku kulit buah naga merah (Pribadi, et al., 2014), aktivitas antibakteri ekstrak etanol, kloroform dan heksana dari kulit buah naga menggunakan metode difusi cakram dan metode kaldu mikro dilusi (Nurmahani, et al., 2012), komposisi kimia dan aktivitas sitotoksik dan antioksidan dari ekstrak karbon dioksida kulit buah naga secara *in vitro* (Luo, et al., 2014), identifikasi pigmen dan sifat antioksidan dari buah naga merah menggunakan HPLC (Rebecca, et al, 2010).

Melihat pemanfaatan kulit buah naga yang cukup luas terutama sebagai antioksidan serta uji aktifitas antioksidan ekstrak kulit buah naga merah dalam bidang farmakologi diketahui masih terbatas, oleh karena itu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktifitas imunomodulator dari kulit buah naga merah *Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose).

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Alat yang digunakan adalah *rotary evaporator* (Ika[®]), timbangan analitik (Ohaus[®]), gelas ukur (Iwaki[®]), erlemeyer (Iwaki[®]), gunting, tabung reaksi (Iwaki[®]), pipet tetes, spatel, wadah maserasi (botol gelap), lumpang dan stamfer (Iwaki[®]), kaca objek (Slider[®]), pinset, kertas saring, botol timbang krus (Iwaki[®]), mikropipet (Eppendorf[®]), rak tabung reaksi, plat tetes (Iwaki[®]), sonde (Terumo[®]), mikroskop (Smic[®]) kertas saring, plat KLT Sillika Gel 60 F254 (Merck[®]), waterbath (Memmert[®]), oven (Memmert[®]), spektrofotometri UV-Vis (Simadzu[®]), Sinar UV 366 (Camag[®]) dan *haemocytometer* (Asisstant[®]).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah naga segar, aquadest, *Natrium Carboxy methyl cellulose*

(NaCMC) (PT. Brataco), etanol 70% (PT. Brataco), pewarna Giemsa (D6 100-Darstadt), tinta cina (Faber-Castell Drawing ink GmbH & Co D-90546), aquadest, minyak emersi (Emersion Oil®), asam asetat 1%, NaCl fisiologis 0,9% (Widatra®), heparin (Fahrenheit®), metanol (PT. Brataco), dan larutan turk (Turk®).

Prosedur Penelitian

Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah kulit buah naga segar sebanyak merah 10 kg yang diperoleh dengan membeli buahnya di Korong Tiram, Nagari Tapakis, Kecamatan Ulakan Tapakis, Kabupaten Padang Pariaman, Sumatra Barat.

Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman buah naga merah (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) dilakukan di Herbarium Laboratorium Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas (ANDA), Padang, Sumatera Barat.

Penyiapan simplisia

Kulit buah naga yang telah dikupas dari buahnya kemudian dibersihkan dari pengotornya, dirajang dengan ukuran \pm 2-3 cm dan keringkan dibawah sinar matahari sampai kadar air \leq 10%. Setelah itu dilakukan sortasi kering dan dihaluskan dengan cara diblender kemudian diperoleh serbuk simplisia kulit buah naga (Departemen Kesehatan RI, 2008).

Penetapan kadar air simplisia

Timbang seksama 1 g simplisia dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu penetapan dan ditara. Ratakan bahan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol, hingga merupakan lapisan setebal kurang 5 mm sampai 10 mm. Jika ekstrak yang diuji berupa ekstrak kental, ratakan sengan bantuan pengaduk. Kemudian dimasukkan ke dalam oven, buka tutupnya, keringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, biarkan botol dalam keadaan tertutup mendingin dalam

dalam ruang pengering, buka tutupnya, keringkan pada suhu hingga bobot tetap (Departemen Kesehatan RI, 2008).

Pembuatan ekstrak etanol kulit buah naga merah

Buat ekstrak dari 300 g serbuk kering simplisia dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Masukkan serbuk kering simplisia kulit buah naga ke dalam maserator, tambahkan 3 L pelarut. Rendam selama 6 jam pertama sambil sekali-kali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Ulangi proses penyarian tiga kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Kumpulkan semua maserat, kemudian uapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Hitung rendemen yang diperoleh yaitu persentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot rajangan simplisia kulit buah naga yang digunakan dengan penimbang (Departemen Kesehatan RI, 2008).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

Parameter Non Spesifik Ekstrak

(Departemen Kesehatan RI, 2000)

Penetapan susut pengeringan ekstrak

Ekstrak ditimbang secara seksama sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam botol timbang yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang ekstrak diratakan dalam botol timbang, dengan menggoyangkan botol, hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 mm sampai 10 mm. Jika ekstrak yang diuji berupa ekstrak kental, ratakan sengan bantuan pengaduk. Kemudian dimasukkan ke dalam oven, buka tutupnya, keringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, biarkan botol dalam keadaan tertutup mendingin dalam

desikator hingga suhu kamar. Jika ekstrak sulit kering dan mencair pada pemanasan, ditambahkan 1 g silika pengering yang telah ditimbang seksama setelah dikeringkan dan disimpan dalam desikator pada suhu kamar. Campuran silika tersebut secara rata dengan ekstrak pada saat panas, kemudian keringkan kembali pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Hitung persen susut pengeringan dengan cara:

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{(W_1 - W_0) - (W_2 - W_0)}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

Keterangan:

W_0 = Berat botol kosong

W_1 = Berat botol + ekstrak sebelum dipanaskan

W_2 = Berat botol + sekstrak setelah dipanaskan

Penetapan kadar abu

2 g ekstrak yang telah digerus dan ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam krus yang telah dipijarkan dan ditara, ratakan. Pijarkan perlahan-lahan hingga arag habis, dinginkan, dan timbang. Jika cara ini arang tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, saring melalui kertas saaring bebas abu. Pijarkan sisa kertas saring dan kertas dalam krus yang sama. Masukan filtrat ke dalam krus, uapkan, pijarkan hingga bobot tetap, timbang. Hitung kadar abu terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara dengan cara :

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

Keterangan :

W_0 = Berat krus kosong

W_1 = Berat krus + sampel sebelum pemijaran

W_2 = Berat krus + sampel setelah pemijaran

Penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, didihkan dengan 25 mL asam

sulfat encer selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, saring melalui krus kaca mesir atau kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas, pijarkan hingga bobot tetap, timbang. Hitung kadar abu yang tidak larut dalam asam terhadap bahan yang telah dikeingkan diudara.

$$\text{kadar abu yang tidak larut asam} = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

Keterangan :

W_0 = berat krus kosong

W_1 = berat krus + ekstrak

W_2 = berat krus + hasil pengeringan

Parameter Spesifik Ekstrak (Departemen Kesehatan RI, 2000)

Identitas

Ekstrak yang diperoleh memiliki identitas yang mendeskripsikan tata nama dan senyawa identitas ekstrak. Deskripsi tata nama tanaman meliputi nama ekstrak, nama latin tanaman (sistematika botani), bagian tanaman yang digunakan dan nama tanaman Indonesia.

Organoleptik

Ekstrak yang diperoleh diuji secara organoleptik menggunakan pengamatan panca indera yang menyatakan bentuk, warna, rasa dan bau dari ekstrak.

Kadar Senyawa Yang Larut Dalam Air

Merasakan sejumlah 5,0 gram ekstrak selama 24 jam dengan 100 ml air kloroform LP menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Saring, uapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasarkan rata yang telah ditara, panaskan residu pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air, dihitung terhadap ekstrak awal.

$$\text{kadar senyawa larut dalam air} = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times \frac{100}{20} \times 100\%$$

Keterangan :

W_0 = berat cawan kosong

W_1 = berat cawan + berat sampel yang digunakan

W_2 = berat cawan + hasil pengeringan

Kadar Senyawa Yang Larut Dalam Etanol

Merasakan sejumlah 5,0 gram ekstrak selama 24 jam dengan menggunakan 100 ml etanol (95%), menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Saring cepat agar menghindarkan penguapan etanol uapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasarkan rata yang telah ditara, panaskan residu pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam etanol, dihitung terhadap ekstrak awal.

$$\text{kadar senyawa larut dalam etanol} = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times \frac{100}{20} \times 100\%$$

Keterangan :

W_0 = berat cawan kosong

W_1 = berat cawan + berat sampel yang digunakan

W_2 = berat cawan + hasil pengeringan

Uji Kromatografi Lapis Tipis

Penjemuhan bejana

Kertas saring ditempatkan dalam bejana kromatografi. Tinggi kertas saring sama dengan lebar bejana. Sejumlah larutan pengembang yang terdiri dari koroform-metanol (9:1) dimasukkan ke dalam bejana. Tutup kedap dan biarkan hingga kertas saring basah seluruhnya. Kertas saring harus selalu tercelup ke dalam larutan pengembang pada dasar bejana.

Larutan uji Kromatografi lapis tipis (KLT)

Timbang seksama lebih kurang 3 g ekstrak dilarutkan dengan etanol di dalam labu ukur 5 ml.

Prosedur kromatografi lapis tipis (KLT)

Ukuran plat 10 cm dan lebar 2 cm buat jarak batas atas dengan batas bawah 8 cm, dan jarak untuk eluen atau fase gerak dengan batas bawah adalah 1 cm. Tolok larutan uji pada jarak 1 cm dari tepi bawah lempeng dan biarkan mengering. Tempatkan lempeng pada rak penyanga, hingga tempat penotolan terletak di sebelah bawah, dan masukkan rak ke dalam bejana kromatografi. Larutan pengembang dalam bejana harus mencapai tepi bawah lapisan penyerap, totolan jangan sampai terendam. Letakkan tutup bejana pada tempatnya dan biarkan sistem hingga fase gerak merambat sampai batas jarak rambat. Keluarkan lempeng dan keringkan di udara, dan amati bercak dengan sinar tampak ultraviolet gelombang pendek (366 nm). Ukur dan catat jarak tiap bercak dari titik penotolan serta catat panjang gelombang untuk tiap bercak yang diamati dan tentukan harga R_f .

Perlakuan pada Hewan Percobaan

Hewan dibagi atas empat kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor, yaitu:

- Kelompok I yaitu kelompok mencit kontrol negatif hanya diberi larutan NaCMC 0,5%.
- Kelompok II yaitu kelompok mencit yang diberikan suspensi ekstrak kulit buah naga, dosis 10 mg/kg BB secara oral 1 kali sehari selama 6 hari.
- Kelompok III yaitu kelompok mencit yang diberikan suspensi ekstrak kulit buah naga, dosis 50 mg/kg BB secara oral 1 kali sehari selama 6 hari.
- Kelompok IV yaitu kelompok mencit yang diberikan suspensi ekstrak kulit buah naga, dosis 100 mg/kg BB secara oral 1 kali sehari selama 6 hari.

Penetapan Kadar Karbon

Tinta cina sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam cawan penguap dan diuapkan dalam oven pada suhu 105 °C selama 30 menit. Pengeringan kemudian dilanjutkan dalam desikator sampai berat konstan.

Pembuatan Kurva Baku Karbon

Tinta cina yang telah dikeringkan lalu ditimbang sebanyak 100 mg, didispersikan dalam 100 mL asam asetat sehingga konsentrasi 1 mg/mL. Masing-masing larutan dipipet sebanyak 2, 3, 4, 5, dan 6 mL, kemudian dicukupkan dengan asam asetat 1% hingga volume 50 mL, sehingga didapatkan kadar karbon 40, 60, 80, 100, dan 120 µg/mL. Dari masing-masing kadar tersebut dipipet sebanyak 4 mL, selanjutnya ditambahkan darah mencit yang diambil dari ujung vena ekor sebanyak 75 µL. Setelah dihomogenkan, ukur adsorbannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 639 nm. Plot adsorben yang diperoleh dengan kadar karbon, digunakan untuk membuat kurva kalibrasi. Sebagai blanko digunakan darah mencit putih jantan dan aquadest saja.

Penyiapan Suspensi Karbon Koloid

Sebanyak 1,6 gram tinta cina yang telah dikeringkan, suspensikan dengan NaCMC 0,5% dalam 25 mL larutan NaCl fisiologis 0,9%, sampai didapatkan konsentrasi larutan 64 mg/mL.

Pembuatan sediaan uji

Suspensi NaCMC 0,5% dibuat dengan cara NaCMC ditimbang 50 mg dikembangkan dengan air panas 20 kalinya, setelah mengembang digerus kemudian tambahkan ekstrak etanol kulit buah naga merah sesuai konsentrasi ekstrak yang telah direncanakan, gerus homogen dan cukupkan

dengan aquadest sampai volume 10 mL. Konsentrasi ekstrak kulit buah naga yang dibuat adalah 0,1%, 0,5% dan 1%.

Metode Carbon Clearence

Selama 6 hari hewan percobaan diberi suspensi ekstrak kulit buah naga secara per oral satu kali sehari sedangkan kontrol hanya diberi NaCMC 0,5%. Pada hari ke-7, ekor mencit dibasahi etanol dengan menggunakan kapas agar pembuluh darah vena ekor berdilatasi kemudian ujung ekor mencit di potong dan darah ditampung pada plat tetes yang telah diberi sedikit heparin, homogenkan. Darah diambil 75 µL dan dilisis dengan 4 mL asam asetat 1%. Contoh darah pertama ini dipakai sebagai blanko (menit ke-0). Kemudian 0,1 mL/10 g BB suspensi karbon disuntikkan secara intravena pada bagian ekor, darah mencit diambil 75µL selama menit ke 3, 6, 9, 12, dan 15 setelah penyuntikan. Masing-masing darah dilisis dengan 4 mL asam asetat 1% dan diukur serapannya pada panjang gelombang 639 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Menghitung Jumlah Sel Leukosit

Darah yang digunakan adalah darah segar pada prosedur metode carbon clearence. Darah segar ditetes pada kaca objek satu tetes dan ratakan dengan kaca objek lain sehingga diperoleh lapisan darah yang homogen (hapusan darah), lalu dikeringkan. Setelah kering ditetes dengan metanol, sehingga melapisi seluruh hapusan darah, dibiarkan selama 5 menit. Lalu ditambahkan satu tetes larutan giemsa yang telah diencerkan dengan air suling dan dibiarkan selama 20 menit, cuci dengan air suling, dikeringkan. Setelah kering, tetesi sedikit minyak emersi, dan dilihat dibawah mikroskop. Dihitung jumlah sel eusinofil, neutrofil batang, limfosit, dan monosit dibawah mikroskop perbesaran 1000x.

Perhitungan Jumlah Total Sel Leukosit Dengan Haemocytometer

Darah segar yang telah diberi heparin dihisap dengan pipet leukosit sampai angka 0,5 tambahkan larutan tuk sampai angka 11 selanjutnya dikocok selama 3 menit dengan alat. Larutan dari dalam pipet 1-2 tetes pertama dibuang dan teteskan satu tetes pada kamar hitung haemocytometer. Biarkan cairan selama 2 menit agar leukosit mengendap. Jumlah sel darah putih dihitung pada keempat sudut kamar hitung.

Perhitungan Bobot Limpa Relatif

Mencit dibedah dan limpa yang berada di sebelah kiri rongga perut yang berwarna merah kehitaman diambil dan dibersihkan dari lemak yang menempel lalu ditimbang dengan timbangan analitik.

Persen bobot limfa relatif dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Bobot limpa relatif} = \frac{\text{Bobot Limpa}}{\text{Bobot Badan}} \times 100\%$$

Perhitungan Konstanta Fagositosis

Perhitungan konstanta fagositosis dengan rumus sebagai berikut :

$$(K) = \frac{\text{Log } A(n) - \text{Log } A(n-1)}{t(n-1) - t(n)}$$

Keterangan :

K = Konstanta fagositosis

A(n) = Absorban pada waktu ke-n

A(n-1) = Absorban pada waktu ke- n-1

T = Waktu (3, 6, 9, 12, 15).

n = Pengamatan ke (n = 1, 2, 3, 4, 5)

Perhitungan Harga Indeks Fagositosis

Perhitungan harga indeks fagositosis dengan rumus sebagai berikut :

$$(IF) = \frac{\text{Konstanta fagositosis mencit } X}{\text{Konstanta fagositosis rata-rata kontrol}}$$

Keterangan:

IF : Indeks fagositosis

Mencit X : Mencit yang telah diperlakukan

dan ditentukan harga konstanta fagositosisnya.

Analisa Data

Data hasil penelitian diolah dengan statistik menggunakan uji ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi tanaman telah dilakukan di Herbarium Laboratorium Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Andalas (ANDA) Kampus Limau Manih Padang Sumatra Barat. Tujuan identifikasi adalah untuk mengetahui identitas sampel yang akan digunakan. Berdasarkan hasil identifikasi tersebut dapat diketahui kepastian bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah naga merah (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) dari family Cactaceae tanaman ini dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Buah naga merah (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose)

Kulit buah naga yang telah dikupas dari buahnya kemudian dibersihkan dari pengotorinya, dirajang dengan ukuran $\pm 2-3$ cm dan keringkan dibawah sinar matahari. Setelah didapatkan simplisia kering kemudian dilanjutkan dengan pengujian kadar air simplisia yang bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang kadar airnya tidak lebih dari 10% agar simplisia memenuhi standarisasi Farmakope Herbal Indonesia Edisi I (2008). Setelah dilakukan pengujian kadar air simplisia diperoleh hasil rata-rata adalah 5,6266 %.

Simplisia yang telah kering kemudian dimaserasi, pemilihan metode maserasi ini

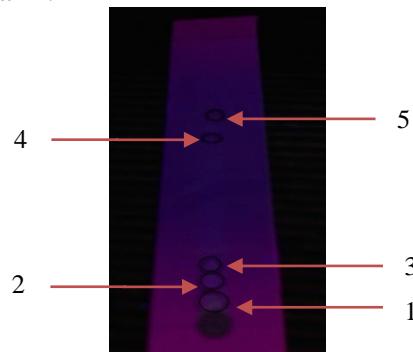
karena dapat menggunakan sampel dalam jumlah yang banyak, pelaksanaannya sederhana, tidak memerlukan perlakuan khusus dan kemungkinan terjadinya penguraian zat aktif oleh pengaruh suhu dapat dihindari karena tidak ada proses pemanasan. Simplisia kulit buah naga yang akan dimerasi dirajang terlebih dahulu dengan tujuan agar pelarut dapat berpenetrasi dengan mudah sehingga penarikan zat aktif lebih sempurna (Harbone, 1987). Merasasi sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Penggunaan etanol sebagai pelarut universal disebabkan karena sifatnya yang mudah melarutkan senyawa zat aktif baik yang bersifat polar, semi polar dan non polar (Harbone, 1987). Keuntungan lain etanol mudah berpenetrasi kedalam sel. Merasasi dilakukan selama 3 hari dengan 3 kali pengulangan.

Setelah proses maserasi dilakukan, hasil maserasi disaring, maserat diuapkan dengan *rotary evaporator*, karena proses penguapan etanolnya lebih cepat dan untuk mendapatkan ekstrak kental yang tidak dapat dituang. Ekstrak kental yang diperoleh dari 300 gram sampel kulit buah naga merah adalah 78,46 gram dengan rendemen 26,15%.

Setelah diperoleh ekstrak kulit buah naga merah dilakukan penentuan parameter dan metode uji ekstrak sebagai persyaratan untuk mendapatkan mutu ekstrak sesuai standar umum ekstrak tumbuhan obat, diantaranya yang dilakukan parameter non spesifik dan parameter spesifik. Parameter non spesifik yang dilakukan dalam penelitian ini adalah susut pengeringan ekstrak dan kadar abu ekstrak. Tujuan dilakukan penetapan susut pengeringan adalah memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air didalam bahan untuk ekstrak yang tidak mempunyai kandungan minyak atsiri tinggi. Hasil yang diperoleh dari susut pengeringan ekstrak

adalah 34,00 %. Sedangkan kadar abu diperoleh 4,58 %. Kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari awal sampai terbentuknya ekstrak.

Karakterisasi spesifik meliputi organoleptik yang bertujuan untuk pengenalan awal yang sederhana kemudian dilakukan uji kromatografi lapis tipis. Hasil kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Kromatografi lapis tipis ekstrak kulit buah naga dengan Fase diam Silika gel 60 F₂₅₄, Fase gerak Kloroform : Metanol (9 : 1), yang dilihat dibawah sinar UV (λ 366 nm).

Keterangan :

- | | | |
|---------|--------|----------------|
| 1. Rf 1 | : 0,05 | 3. Rf 4 : 0,55 |
| 2. Rf 3 | : 0,15 | 4. Rf5 : 0,64 |

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dari ekstrak kulit buah naga merah yang dibuat dalam tiga variasi dosis berdasarkan faktor kelipatan (logaritma) yaitu 10 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB terhadap mencit putih jantan. Ekstrak dibuat dalam bentuk suspensi, sebagai pensuspensi digunakan NaCMC 0,5%. NaCMC mempunyai sifat inert, menghasilkan suspensi yang stabil, resistensinya terhadap mikroba baik dan tingkat kejernihannya tinggi. Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan. Alasan pemilihan hewan percobaannya mencit putih jantan karena mencit mempunyai fisiologis

yang mirip dengan manusia dan mudah untuk diperlakukan. Hal ini juga disebabkan karena sistem imun mencit jantan tidak dipengaruhi oleh hormon esterogen seperti halnya pada mencit betina (Baratawidjaja, 2009).

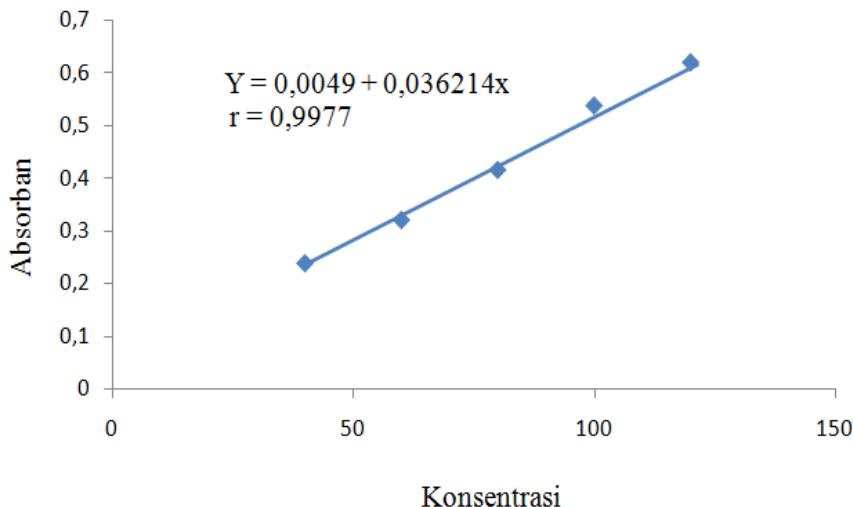
Pada penelitian ini dilakukan pengujian untuk melihat efek imunomodulasi ekstrak kulit buah naga merah terhadap respon imun spesifik dan non spesifik. Respon imun non spesifik dilakukan dengan menggunakan metode "*carbon clearance*" dan menghitung persentase sel leukosit dengan metode hapusan darah dan jumlah total leukosit yang menggunakan alat haemocytometer, sedangkan respon imun spesifik dapat dilihat dengan peningkatan bobot limpa mencit yang digunakan. Metoda bersihan karbon merupakan pengujian kemampuan fagositosis dengan menggunakan karbon sebagai antigen yang diberikan secara intravena. Karbon akan berkurang jumlahnya dalam darah seiring pertambahan waktu, karena adanya peristiwa fagositosis oleh sel-sel leukosit terutama neutrofil, monosit, makrofag dan eosinofil (Baratawidjaja, 2009). Sel yang sangat berperan dalam fagositosis adalah limfosit, neutrofil, dan monosit. Kecepatan bersihan karbon dilihat tiap menit ke-3, 6, 9, 12, dan 15. Karbon yang digunakan adalah tinta cina yang telah dikeringkan (Faber Castell Drawing Ink GmBH & Co D-90546). Hal ini karena ukuran partikelnya lebih kecil dan lebih stabil, sehingga tidak menyebabkan penyumbatan pada pembuluh darah dan paru-paru.

Ekstrak kulit buah naga merah diberikan selama 6 hari berturut-turut,

tujuannya untuk memberikan kesempatan bagi zat uji dalam meningkatkan respon imun non spesifik. Kecepatan karbon sebagai *marker* dalam darah mencit adalah sebagai parameter yang diamati. Semakin banyak karbon yang difagosit maka akan sedikit karbon yang tinggal di dalam darah.

Pada uji penetapan kadar dapat diketahui bahwa kadar Karbon tinta cina yang digunakan yaitu 24,29%. Pembuatan suspensi carbon dilakukan dengan cara penambahan NaCMC 0,5% dalam 25 mL larutan NaCl fisiologis 0,9% sebagai pelarut. Penggunaan NaCl fisiologis bertujuan agar kondisi sediaan suspensi karbon sama dengan kondisi tubuh mencit. Karbon sebagai benda asing akan segera difagosit oleh sel leukosit khususnya sel neutrofil dan makrofag (Kresno, 2010).

Untuk melihat efek fagositosis uji bersihan karbon dapat dibuatkan suatu kurva baku antara kadar karbon dalam darah dengan density optik, Pembuatan kurva baku ini gunanya untuk melihat hubungan linier antara kadar karbon dalam darah mencit dengan density optik yang diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 639 nm. Dari kurva baku tersebut diperoleh persamaan regresi serapan dan konsentrasi karbon yaitu $y = 0,0049 + 0,036214x$ dengan $r = 0,9977$. Hasil tersebut menunjukkan adanya hubungan linier antara konsentrasi karbon dalam darah mencit putih jantan dengan nilai absorban. Semakin tinggi konsentrasi karbon dalam darah maka akan semakin tinggi pula nilai absorban yang diperoleh. Data lengkap dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. kurva kalibrasi karbon dalam darah mencit pada panjang gelombang 639 nm.

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan terhadap nilai density optik terlihat bahwa terjadinya penurunan nilai density optik pada semua kelompok dosis ekstrak kulit buah naga merah dibanding kelompok kontrol negatif. Penurunan nilai absorban yang terbesar adalah terjadi pada dosis 100 mg/kg BB, lalu setelah itu dosis 50 mg/kg BB dan kemudian dosis 10 mg/kg BB. Semakin rendah nilai absorban berarti konsentrasi karbon yang tinggal dalam darah mencit semakin sedikit. Hal ini memperlihatkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas fagositosis pada masing-masing kelompok variasi dosis.

Dari hasil nilai density optik yang diperoleh tersebut dapat dihitung nilai konstanta fagositosis dari masing-masing dosis ekstrak. Konstanta fagositosis merupakan salah satu parameter yang menunjukkan kecepatan fagositosis, semakin besar harga konstanta fagositosis maka semakin tinggi kecepatan bersih karbon. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh ekstrak yang kulit buah naga merah terhadap kecepatan eliminasi karbon dari dalam darah. Dari nilai konstanta fagositosis dapat diperoleh nilai indeks fagositosis, hasil perhitungan nilai indeks

fagositosis, hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Harga konstanta fagositosis dari mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak kulit buah naga merah selama 6 hari.

Waktu (menit)	Konstanta Fagositosis			
	I	II	III	IV
3	0,024	0,032	0,038	0,082
6	0,013	0,033	0,089	0,058
9	0,024	0,036	0,016	0,024
12	0,021	0,029	0,046	0,029
15	0,016	0,101	0,056	0,113
ΣX	0,098	0,231	0,245	0,306
Rata-rata	0,020	0,046	0,049	0,061
SD	0,005	0,031	0,027	0,037

Efek pemberian ekstrak kulit buah naga merah terhadap peningkatan aktifitas fagositosis dapat terlihat pada nilai rata-rata indeks fagositosis > 1 untuk semua kelompok dosis, artinya ekstrak kulit buah naga merah ini memiliki kemampuan sebagai imunostimulan, dimana daya tubuh akan semakin meningkat. Peningkatan indeks bersih karbon (carbon clearance) mencerminkan peningkatan fungsi

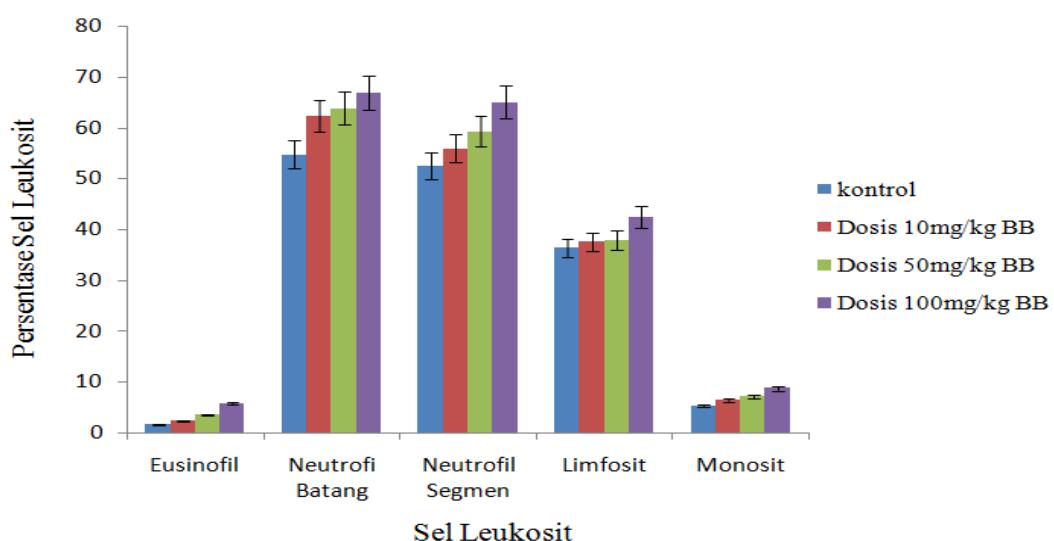
fagositosis dari makrofag mononuklear dan sistem imun non spesifik (Dashputre & Naikwade, 2010). hasil perhitungan nilai indeks fagositosis, hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Nilai indeks fagositosis dari mencit putih jantan setelah pemberian esktrak kulit buah naga merah selama 6 hari.

Waktu (menit)	Indeks Fagositosis		
	I	II	III
3	1,333	1,583	3,417
6	2,538	6,846	4,462
9	1,500	0,667	1,000
12	1,381	2,190	1,381
15	6,313	3,500	7,063

	Neutrofil batang	13,065	14,786	17,323
Rata-rata		2,613	2,957	3,465
SD		2,127	2,405	2,468

Pada penghitungan sel leukosit dengan metoda hapusan darah menggunakan larutan Giemsa sebagai pewarna, kemudian menggunakan minyak emersi sebagai penjelas bentuk sel leukosit terlihat sel neutrofil batang, sel eusinofil, sel monosit, sel neutrofil segmen, dan sel limfosit. Sedangkan sel basofil yang bersifat basa tidak dapat diamati karena sel ini larut dalam pewarna Giemsa. Hasil perhitungan jumlah sel leukosit darah mencit putih dapat dilihat pada gambar 4 dan bentuk sel leukosit dari hapusan darah dapat dilihat pada gambar 5.



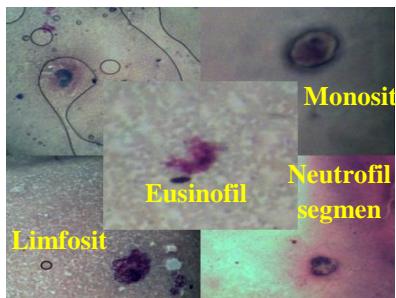
Gambar 4. Grafik jumlah sel leukosit dari hapusan darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak kulit buah naga merah selama 6 hari

Dari hasil uji statistik menggunakan analisis variansi satu arah, terlihat bahwa efek dosis 100 mg/kg BB dan beberapa kelompok dosis perlakuan terhadap kontrol berbeda secara nyata ($P < 0,05$) pada setiap kelompok dosis untuk sel neutrofil batang, eusinofil, neutrofil segmen, limfosit, dan monosit. Setelah dilakukan uji lanjut duncan terlihat bahwa pada sel eusinofil, sel neutrofil batang, limfosit, neutrofil segmen

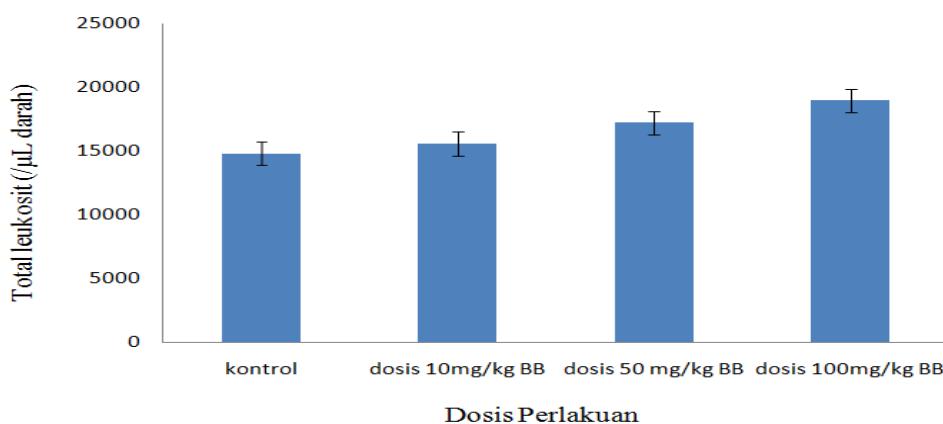
dan monosit terdapat perbedaan yang bermakna antara masing-masing kelompok dosis dengan kelompok kontrol.

Selain itu juga dilakukan uji leukosit total menggunakan alat haemocytometer. Pada tabel anova satu arah menunjukkan pengaruh yang sangat signifikan yaitu dengan nilai (sig. $0,000 < 0,05$). Analisis selanjutnya dilakukan dengan uji duncan, dimana kontrol berbeda nyata dengan dosis

kelompok ekstrak. Selengkapnya dapat dilihat pada gambar 4 dan 5.



Gambar 5. Sel leukosit mencit dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000 X.



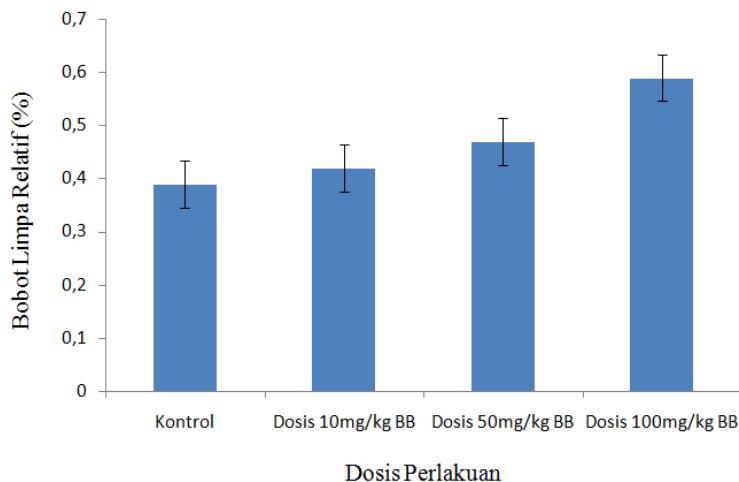
Gambar 6. Grafik jumlah total sel leukosit pada mencit jantan setelah pemberian ekstrak kulit buah naga merah selama 6 hari dengan hemocytometer.



Gambar 7. Sel leukosit mencit dilihat menggunakan dengan hemocytometer pada pembesaran 1000 X

Kemudian dilakukan dengan pengujian uji respon imun spesifik dilakukan dengan menimbang bobot limpa dan penghitungan jumlah sel limfosit pada limpa mencit. Limpa merupakan tempat pembentukan limfosit yang digiatkan untuk masuk ke dalam darah.

Limpa bereaksi terhadap antigen yang terbawa darah dan merupakan organ pembentukan antibodi. Hasil penimbangan bobot limpa dan bobot limpa relatif beberapa variasi dosis ekstrak kulit buah naga merah dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 8. Grafik bobot limpa relatif setelah pemberian ekstrak kulit buah naga merah selama 6 hari.

Dapat dilihat dari kenaikan nilai bobot limpa relatif dari tiap perlakuan dengan dosis yang berbeda. Ini berarti semakin tinggi bobot limpa maka semakin tinggi sel fagositik yang dihasilkan dalam pembentukan antibodi. Berdasarkan data bobot limpa didapatkan peningkatan bobot limpa yang optimal terjadi pada kelompok dosis 100 mg/kg BB. Pada tabel anova satu arah menunjukkan pengaruh yang sangat signifikan dengan nilai ($\text{sig. } 0,001 < 0,05$). Analisis selanjutnya dilakukan dengan uji duncan, dimana kontrol tidak berbeda nyata dengan dosis 10 mg/kg BB dan dosis 50 mg/kg BB, tetapi kontrol sangat berbeda nyata dengan dosis 100 mg/kg BB, dari hasil perhitungan bobot limpa relatif setiap dosis menunjukkan adanya efek ekstrak kulit buah naga terhadap aktivitas imunostimulan. Dalam limpa, sel B menjadi aktif dan menghasilkan sejumlah besar antibodi yang terdiri dari sel-sel B, sel T, makrofag, dendritik sel, sel-sel pembunuh alami dan sel darah merah, yang menangkap benda asing (antigen) dari darah yang melewati limpa (Nagarathna *et al*, 2013).

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan dan ditinjau dari beberapa parameter uji yang telah dilakukan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus lemairei*

(Hook.) Britton & Rose) dapat meningkatkan kemampuan fagositosis dan dapat meningkatkan aktifitas sistem imun tubuh serta dapat dikembangkan sebagai obat imunostimulan.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang uji aktifitas immunomodulator dan jumlah sel leukosit dari ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) pada mencit putih jantan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kulit buah naga yang diberikan terhadap mencit putih jantan memiliki efek imunomodulator yang mempunyai aktifitas sebagai imunostimulan sehingga dapat meningkatkan kemampuan fagositosis.
2. Penggunaan ekstrak kulit buah naga merah dapat meningkatkan jumlah sel dan jumlah total sel leukosit serta dapat mempengaruhi bobot limpa relatif dalam pembentukan sistem imun tubuh.
3. Semakin tinggi pemberian dosis ekstrak kulit buah naga merah, maka semakin meningkat kemampuan fagositosis dan aktifitas sistem imun tubuh dan dosis

100 mg/kgBB memiliki aktivitas imunostimulant paling tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Baratawidjaja, K.G. (2006). *Imunologi Dasar*. (Edisi 7). Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Bellanti, J.A. (1993). *Imunologi III*. Penerjemah: Wahab, A.S. & Soerapto, N. Yogyakarta: Gajah Mada Press.
- Darwin, E. (2006). *Imunologi dan Infeksi*. Padang: Universitas Andalas Press.
- Dashputre, N. L., & Naikwade, N. S. (2010). Immunomodulatory activity of *Abutilon indicum* L on albino mice. *International journal of pharma Sciences and research*. 1(3),178-184.
- Departemen Kesehatan RI. (1995). *Farmakope Indonesia*. (Edisi 4). Jakarta: Depkes RI.
- Departemen Kesehatan RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Depkes RI.
- Choo, W. S., & Yong, W. K. (2011). Antioxidant properties of two species of *Hylocereus* fruits. *Advances in Applied Science Research*, 2 (3): 418-425.
- Harbone, J. B. (1987). *Metoda fitokimia, penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. (edisi ke-2). Diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan I. Soediro. Bandung: ITB.
- Kresno, S.B. (2010). *Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. (Edisi ke 5). Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Luo, H., Cai, Y., Peng, Z., Liu, T., & Yang, S. (2014). Chemical composition and in vitro evaluation of the cytotoxic and antioxidant activities of supercritical carbon dioxide extracts of pitaya (dragon fruit) peel. *Chemistry central Journal*. 8, (1), 1-7.
- Nurmahani, M.M., Osman, A., Hamid, A.A., Ghazali, M.F. & Dek, P.M.S. (2012). Short communication antibacterial property of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* peel extracts. *International Food Research Journal*. 19, (1), 77-84.
- Nagarathna, P.K.M., Reena, K., Reddy, S., & Wesley, J. (2013). Review on immunomodulation and immunomodulatory activity of some herbal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 22, (1), 223-230.
- Nurliyani, R., Syed, Z.I., Mustapha, S.K., Aisyah, M.R. & Kamarul, R.K. (2010). Antioxidant study of pulps and peels of dragon fruits: Comparative study. *International Food Research Journal*. 17, 367-375.
- Pribadi, Y. S., Sukatiningsih., & Sari, P. (2014). Formulasi tablet effervescent berbahan baku kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan buah salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 1, (4),86-89.
- Rebbeca, O. P. S., Boyce, A. N., & Chandran, S. (2010). Pigment identification and antioxidant properties of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *African Journal of Biotechnology*. 9, (10),1450-1454.

- Wisesa, T.F, & Widjanarko, S.B. (2014).
Penentuan nilai maksimum proses
ekstraksi kulit buah naga merah
(*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal
Pangan dan Agroindustri.* 2, (3), 88-
97.
- Tjay, T.H., & Rahardja, K. (2007). *Obat-
Obat Penting : Khasiat,Penggunaan, Dan Efek
Sampingnya.* (Edisi ke-6) . Jakarta:
PT.Elex Media Komputindo.