

AKTIVITAS IMUNOMODULATOR EKSTRAK ETANOL 70% DAUN TALOK (*Muntingia calabura* L.) TERHADAP RESPON IMUN NON SPESIFIK PADA MENCIT JANTAN GALUR SWISS WEBSTER

IMUNOMODULATOR ACTIVITY OF ETHANOL-70% EXTRACT OF TALOK LEAVES (*Muntingia calabura* L.) ON NON-SPECIFIC IMMUNE RESPONSE IN MALE SWISS WEBSTER MICE

Tanti Azizah Sujono^{1*} dan Muh. Fakhruddin¹

¹Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah
Surakarta, Sukoharjo, Indonesia

*E-mail correspondence : tanti_azizah@ums.ac.id

Abstrak

Daun talok (*Muntingia calabura* L.) dengan kandungan flavonoid memiliki aktivitas antioksidan sehingga berpotensi dikembangkan sebagai pengobatan alternatif dan agen imunostimulan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas imunomodulator ekstrak etanol 70% daun talok (EEDT) terhadap respon imun non spesifik. Penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) dengan variabel bebas peringkat dosis EEDT 50, 100 dan 200 mg/kgBB selama 7 hari secara peroral. Uji respon imun non spesifik ini menggunakan metode bersihan karbon dan indeks organ limfoid yang dilakukan pada mencit. Data dianalisis menggunakan uji parametrik one way ANOVA untuk indeks fagositik dan indeks organ limfoid. Hasil uji bersihan karbon menunjukkan bahwa EEDT dosis 50 mg/kgBB tidak berefek imunostimulan dengan indeks fagositik 1,165; dosis 100 mg/kgBB bersifat imunostimulan sedang dengan indeks fagositik 1,311; sedangkan EEDT dosis 200 mg/kgBB bersifat imunostimulan kuat dengan indeks fagositik 2,839. Peningkatan bobot limpa pada hasil uji indeks organ limfoid menunjukkan adanya efek ekstrak etanol 70% daun talok terhadap aktivitas imunostimulan. Hasil skrining fitokimia EEDT terbukti mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Berdasarkan hasil yang didapat maka disimpulkan bahwa pemberian EEDT 100 dan 200 mg/kgBB selama 7 hari menunjukkan aktivitas imunostimulan.

Kata Kunci: *Muntingia calabura*, indeks fagosit, bersihan karbon, imunostimulan

Abstract

Talok (*Muntingia calabura* L.) leaves contain flavonoids to have antioxidant activity and have potential to be developed as an alternative medicine and immunostimulating agent. This study aims to determine the immunomodulatory activity of ethanol-70% extract of talok leaves (EEDT) against non-specific immune responses. The experimental research with randomized design research (CRD) on independent variable with EEDT at a dose of 50, 100, and 200 mg/kgBW. Treatments were given orally for 7 days. This non-specific immune response test used the method of carbon clearance and lymphoid organ index which was carried out on mice. Data were analyzed using one-way ANOVA parametric test for phagocytic index and lymphoid organ index. The results of the carbon clearance test showed that the ethanol extract of 70% talok leaves 50 mg/kgBW did not have immunostimulants effect with phagocytic indexes of 1.165; dose of 100 mg/kgBW were moderate immunostimulants with phagocytic indexes of 1.311; meanwhile, EEDT at a dose of 200 mg/kgBW were strong immunostimulant with a phagocytic index of 2.839. The

increase in spleen weight on the lymphoid organ index test results showed an effect of EEDT on immunostimulating activity. The results of phytochemical screening of EEDT were proven to contain alkaloid, flavonoid, saponin, tannin and steroid class compounds. Based on the results obtained, it was concluded that giving EEDT 100 and 200 mg/kgBW for 7 days showed immunostimulatory activity.

Keywords: *Muntingia calabura*, phagocytic index, carbon clearance, immunostimulant

PENDAHULUAN

Imunomodulator merupakan suatu senyawa alami atau sintetis yang mempunyai kemampuan untuk mengatur keseimbangan sistem kekebalan tubuh baik untuk imunostimulan maupun immunosupresan. Sistem kekebalan tubuh sangat penting untuk pencegahan dan pemulihan dari penyakit infeksi. Aktivasi respon imun diharapkan dapat mengurangi risiko penyakit kronis (Mahima *et al.*, 2013). Sistem imun terbagi menjadi dua jenis, yaitu non spesifik dan spesifik yang bekerja sebagai sistem pertahanan tubuh (Antari, 2017). Respon imun nonspesifik lebih dikenal sebagai imunitas bawaan (*innate immunity*) yang merupakan pertahanan pertama, dalam arti bahwa walaupun tubuh belum pernah terpapar zat asing ini sebelumnya, respon terhadap zat asing tersebut dapat terjadi yang dilakukan oleh makrofag. Respon imun spesifik adalah sebagai adaptif, arahnya adalah seperti imunoglobulin, dimana dia mempunyai memori terhadap paparan antigen sebelumnya (Kresno, 2010).

Pada saat ini minat masyarakat untuk menggunakan obat-obatan herbal sebagai agen untuk memodulasi sistem kekebalan tubuh dalam mencegah infeksi semakin meningkat (Jantan *et al.*, 2015). Tanaman yang diduga dapat meningkatkan sistem imun salah satunya adalah kersen atau talok (*Muntingia calabura* L.). Kersen merupakan tanaman yang mudah tumbuh di Indonesia. Daun kersen atau talok telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan karena mengandung senyawa flavonoid, tanin, triterpen, saponin, polifenol (Zakaria *et al.*, 2011). Kandungan flavonoid pada tanaman mempunyai banyak aktivitas farmakologis diantaranya sebagai imunomodulator (Patel and Vajdy, 2015) sehingga talok diduga memiliki efek imunomodulator karena mengandung flavonoid tersebut. Penelitian lain menyebutkan bahwa senyawa fitokimia yang telah dilaporkan bertanggung jawab pada aktivitas imunomodulasi adalah flavonoid, polisakarida, lakton, alkaloid, diterpenoid, dan glikosida (Jantan *et al.*, 2015).

Metode *carbon clearance* (bersihan karbon) digunakan untuk mengamati aktivitas sistem retikuloendotelial (RES) dalam mengukur hilangnya partikel atau imun kompleks dari sirkulasi yang tergantung pada pembentukan kompleks intravaskuler setelah injeksi antigen (Savadi *et al.*, 2010). Dillasamola *et al.* (2018) menyatakan bahwa karbon memiliki karakteristik sebagai antigen dan dalam keadaan normal, karbon tidak ada dalam tubuh. Karbon tidak menyebabkan penyumbatan pembuluh darah dan paru-paru. Penggunaan karbon digunakan sebagai penanda dalam penelitian ini karena memiliki beberapa keunggulan, seperti ukuran partikel yang kecil dan stabil. Berdasarkan uraian tersebut, tujuan dari penelitian ini untuk membuktikan aktivitas imunomodulator ekstrak etanol 70% daun talok terhadap respon imun non spesifik dan golongan senyawa yang terkandung di dalam EEDT.

METODE PENELITIAN

Kategori dan rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan kategori eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variabel bebas peringkat dosis EEDT 50, 100 dan 200 mg/kgBB.

Alat yang digunakan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kandang hewan, lemari pengering, bejana maserasi, neraca analitik OHAUS Pioneer dengan sensitivitas 0,0001 g, triple beam balance, spuit injeksi 1 mL (Onemed), rotary evaporator, spuit oral, Jarum (Terumo Needle 27G x ½”), pipa kapiler hematocrit, scalpel, alat-alat gelas, spuit oral, micro pipet 5-50 µL, eppendorf, vortex, yellow tip, kuvet, dan spektrofotometer UV-VIS (SHIMADZU).

Bahan uji yang digunakan

Bahan yang digunakan adalah daun talok yang diperoleh dari Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia; etanol 70% (teknis); aquadest; larutan NaCl 0,9% (WIDA); CMC-Na 0,5%; stimuno (Dexa Medica); prednison (Lexacort® PT.Molex Ayus); EDTA 0,1%; asam asetat (Merck); tinta indian; dan gelatin.

Identifikasi tanaman

Daun talok (*Muntingia calabura* L.) dideterminasi di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNS dengan nomor /UN27.9.6.4/Lab/2021.

Pembuatan ekstrak daun talok

Daun dari tanaman talok dikumpulkan dan dikeringkan menggunakan almari pengering dengan suhu 50° C selama 1 hari. Sebanyak 370,14 g simplisia daun talok yang telah diserbukkan, selanjutnya dimaserasi dengan 7 liter etanol 70% selama 3 hari sampai filtrat jernih dengan sesekali diaduk. Ampas yang didapatkan diremaserasi kembali dengan etanol 70% sebanyak 3 liter. Filtrat dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator.

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam daun talok. Uji skrining fitokimia pada penelitian ini meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid.

Senyawa alkaloid. Sejumlah ekstrak daun talok dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan HCl 2%, kemudian dibagi menjadi 2 tabung. Tabung pertama ditambah reagen Dragendroff sebanyak 3 tetes dan 3 tetes reagen Mayer ditambahkan pada tabung kedua. Keberadaan alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan putih atau kekuningan (reagen Mayer) dan endapan merah bata, merah, jingga (Dragendroff) (Harborne, 1987).

Senyawa flavonoid. Sejumlah ekstrak daun talok ditambahkan dengan ± 5 mL aquadest dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dikocok dan disaring. Filtrat ditambahkan serbuk magnesium secukupnya, dikocok hingga tercampur, dan ditambahkan HCl pekat 1 mL. Adanya flavonoid ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah, jingga atau kuning (Harborne, 1987).

Senyawa saponin. Sejumlah ekstrak daun talok dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah 10 mL air panas, dikocok kuat selama 10 detik sampai muncul buih, dan ditambahkan HCl 2 N sebanyak 1 tetes. Senyawa saponin ditunjukkan dengan buih yang tidak hilang dalam 10 menit (Harborne, 1987).

Senyawa tanin dan polifenol. Sejumlah ekstrak daun talok dibagi ke dalam 2 tabung. Tabung pertama ditambahkan dengan larutan FeCl_3 10%, adanya senyawa tanin dan polifenol ditunjukkan dengan warna biru tua atau hitam kehijauan yang muncul, sedangkan pada tabung kedua ditambahkan garam gelatin. Adanya senyawa tanin ditunjukkan dengan endapan yang terbentuk pada tabung kedua (Harborne, 1987).

Steroid dan triterpenoid. Sejumlah ekstrak daun talok ditambahkan dietil eter, dibiarkan selama 10 menit, filtrat dipisahkan, lalu ditambahkan asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat. Adanya senyawa steroid ditunjukkan hijau kebiruan sedangkan adanya triterpenoid ditunjukkan dengan warna merah-ungu (Harborne, 1987).

Penetapan dosis

Dosis stimuno sebagai kontrol positif imunostimulan sebesar 6,5 mg/kgBB (Azizah *et al.*, 2017). Dosis prednison sebagai kontrol positif immunosupresan yaitu sebesar 25 mg/kgBB (Iwo *et al.*, 2000) dan dosis EEDT sesuai dengan trial error yang dilakukan sebesar 50, 100, dan 200 mg/kgBB secara peroral.

Penyiapan hewan uji

Sebanyak 24 mencit jantan galur Swiss Webster berat 20-25 gram dengan umur 8-10 minggu dibagi menjadi 6 kelompok yang terdiri dari 4 ekor mencit setiap kelompoknya. Mencit yang digunakan untuk penelitian diadaptasikan terlebih dahulu selama 1 minggu. Setiap kandang dilengkapi dengan botol minum untuk mencit dan kandang dibersihkan setiap 3 hari sekali. Selama proses aklimatisasi, mencit diberi pelet dan air minum *ad libitum* setiap satu kali sehari. Penggunaan hewan uji dan protokol uji pada penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta dengan nomor surat 3049/A.1/KEPK-FKUMS/XI/2020.

Penyiapan suspensi koloid karbon

Suspensi karbon dibuat dengan mensuspensikan 1,6 mL tinta indian dalam 8,4 mL gelatin 1% b/v dalam larutan NaCl 0,9% bebas pirogen (Faradilla *and* Iwo, 2014).

Uji perlakuan

Sebanyak 24 ekor mencit dibagi 6 kelompok. Perlakuan dibedakan sebagai berikut : kelompok I diberi CMC-Na 0,5% sebagai kontrol negatif, kelompok II diberikan stimuno 6,5 mg/kgBB sebagai kontrol positif imunostimulan, kelompok III diberikan prednison 25 mg/kgBB sebagai kontrol positif immunosupresan, EEDT dengan dosis 50, 100, dan 200 mg/kgBB. Mencit diberi sediaan uji selama 7 hari secara peroral dengan frekuensi satu kali sehari. Sebelum diinduksi dengan suspensi karbon, pada hari ke-8, tiap-tiap kelompok hewan uji dilakukan pengambilan darah (pada menit ke-0). Setelah itu mencit jantan diinjeksi suspensi koloid karbon dalam gelatin 0,1 mL/10 gBB melalui pembuluh darah vena ekor tikus. Darah diambil setiap 5 menit sampai menit ke-30 (menit ke-5, 10, 15, 20, dan 30). Darah yang diambil sebanyak 25 μL dan dicampurkan dengan 3 mL asam asetat 1%, kemudian diukur persen transmittannya menggunakan spektrofotometer visibel dengan panjang gelombang 675 nm. Penentuan aktivitas fagositosis didasarkan pada perbandingan antara kemiringan garis regresi linear antara 100% - Transmittan terhadap waktu pada kelompok uji dan kontrol (Puspitaningrum *et al.*, 2017). Dihitung konstanta fagositik (K) dan indeks fagositik (IF) menggunakan rumus:

$$K = \text{Log}A_{(n)} - \frac{\text{Log}A_{(n-1)}}{t_{(n-1)} - t_{(n)}} \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan:

- K = Konstanta fagositik
- A = Absorban waktu ke-0
- t = Waktu
- n = Periode pengambilan (1,2,3,4,n)

$$IF = \frac{\text{Konstanta fagositik mencit Z}}{\text{Konstanta fagositik rata-rata kontrol negatif}} \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan:

- IF = Indeks Fagositik
- Mencit Z = Mencit yang telah diperlakukan dan ditentukan harga konstanta fagositiknya

Pengujian indeks organ limfoid

Organ limfoid diambil dari mencit jantan yang dikorbankan dengan cara dislokasi leher. Timbang organ limfoid (hati, limpa dan timus) dari masing-masing hewan uji dan dihitung indeks organ dengan rumus:

$$\frac{\text{Berat organ (g)}}{\text{Berat badan mencit(g)}} \times 100 \dots\dots\dots (3)$$

Analisis data

Data indeks fagositik dan indeks organ disajikan sebagai rata-rata ± SD. Analisis dilakukan menggunakan Anova satu arah dengan taraf kepercayaan 95% karena data terdistribusi normal dan homogen. Analisis ini untuk menunjukkan perbedaan rata-rata setiap kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji fitokimia ini dilakukan secara kualitatif dengan metode tabung untuk mengetahui kandungan golongan senyawa yang terdapat dalam EEDT yang diduga berefek imunostimulan. Hasil dari skirining fitokimia ini menunjukkan bahwa EEDT mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, polifenol, tanin, dan steroid seperti pada Tabel 1. Etanol digunakan sebagai penyari, karena bersifat universal yang dapat menyari senyawa aktif seperti tanin, polifenol, poliasetilen, flavonoid, terpenoid, sterol, alkaloid (Pandey *et al.*, 2014).

Ekstrak etanol 70% daun talok (*Muntingia calabura* L.) yang diperoleh dari hasil maserasi sebanyak 95,2 gram dengan rendemen sebesar 25,72%. Kemudian dilakukan uji imunomodulator terhadap respon imun non spesifik. Imunomodulator merupakan suatu senyawa yang dapat mempengaruhi sistem imun tubuh. Sistem imun non spesifik lebih dikenal sebagai imunitas bawaan (*innate immunity*) yang merupakan pertahanan pertama untuk melindungi tubuh dari kerusakan yang disebabkan zat asing yang dideteksinya walaupun tubuh tidak dapat mengenali dan mengingat zat asing tersebut (Khadijah, 2017).

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 70% daun talok

Pemeriksaan	Hasil Teoritis	Hasil Pengujian	Keterangan
Alkaloid	Mayer: endapan putih atau kekuningan Dragendroff: endapan merah bata, merah, jingga	Mayer: endapan kekuning Dragendroff: endapan merah bata, merah, jingga	+
Flavonoid	Terbentuk warna merah, jingga atau kuning	Terbentuk warna jingga	+
Saponin	Buih tidak hilang selama 10 menit	Buih tidak hilang selama 10 menit	+
Tanin dan Polifenol	Tanin dan Polifenol: warna biru tua atau hitam kehijauan dan endapan	Terbentuk hitam kehijauan dan endapan	+
Steroid	Hijau kebiruan	Terbentuk warna hijau kebiruan	+
Keterangan :	Positif (+) = mengandung golongan senyawa Negatif (-) = tidak mengandung golongan senyawa		

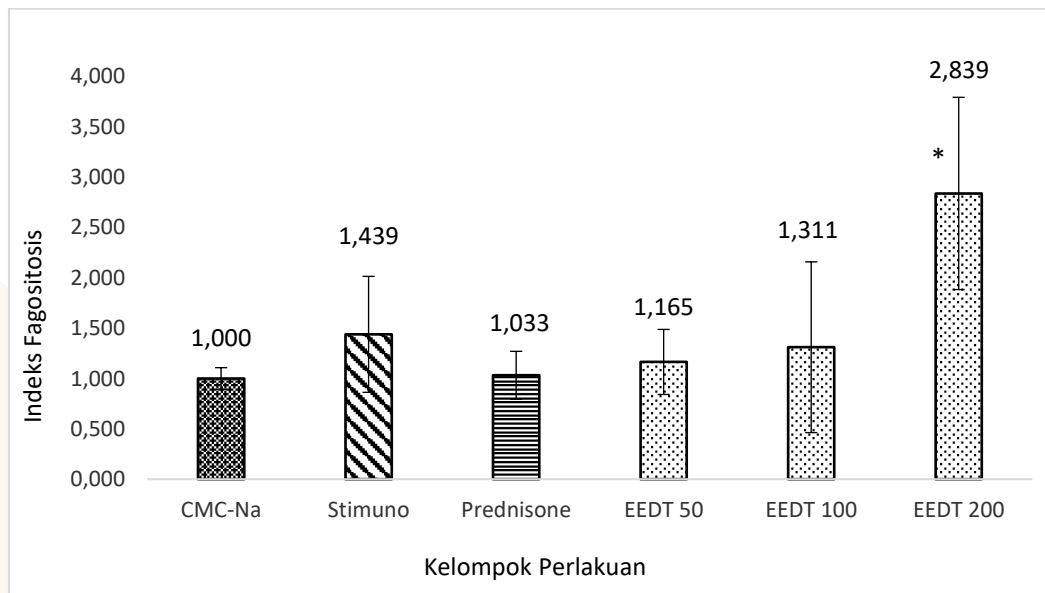
Metode uji pembersihan karbon dilakukan untuk mengamati aktivitas sistem retikuloendotelial (RES) dalam menghilangkan suspensi koloid karbon dari sirkulasi darah (Savadi *et al.*, 2010). Pemberian suspensi karbon sebagai antigen merupakan langkah awal uji imunomodulator terhadap respon imun non spesifik. Karbon dibuat dalam bentuk suspensi dengan melarutkan gelatin sebagai pensuspensi dalam larutan NaCl fisiologis 0,9%. Indeks fagositik <1 menunjukkan efek immunosupresan, indeks fagositik < 1,2 menunjukkan tidak berefek immunostimulan, indeks fagositik 1,3-1,5 berarti menunjukkan immunostimulan sedang, indeks fagositik > 1,5 menunjukkan bahwa zat uji mempunyai efek immunostimulan kuat (Wagner, 1999). CMC-Na dipilih sebagai kontrol negatif karena tidak mengandung zat aktif sehingga tidak dapat memberikan efek farmakologi pada hewan uji. Dalam penelitian ini CMC-Na juga digunakan sebagai pensuspensi sediaan yang dibuat, karena CMC-Na bersifat inert serta dapat menghasilkan suspensi yang stabil. Stimuno® dosis 6,5 mg/kgBB dipilih sebagai kontrol positif seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Zalizar (2013) bahwa Stimuno® yang mengandung ekstrak meniran terbukti berperan sebagai immunomodulator khususnya yaitu sebagai immunostimulan dengan cara berperan sebagai mitogen limfosit yang poten, menginduksi aktivasi permukaan (CD69), dan mampu berperan dalam proliferasi limfosit B dan limfosit T (Lee *et al.*, 2016). Prednison® dosis 25 mg/kgBB digunakan dalam penelitian ini sebagai kontrol positif immunosupresan. Prednison adalah kortikosteroid (obat yang menyerupai kortison atau steroid). Prednison bekerja dengan menekan sistem kekebalan tubuh dan membantu meringankan pembengkakan, kemerahan, gatal, dan reaksi alergi (Bunte *et al.*, 2018). Nilai transmitan pada menit ke-0 sampai menit ke-30 dapat dilihat pada Tabel 2.

Aktivitas fagositosis sel-sel fagositik terhadap partikel karbon (antigen) akibat pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% daun talok ditunjukkan dengan nilai rata-rata indeks fagositik. Berdasarkan Gambar 1, terlihat bahwa EEDT terbukti memiliki efek immunostimulan. Semakin tinggi dosis EEDT maka semakin tinggi juga efek immunostimulan yang dihasilkan. Pada hasil penelitian ini diperoleh hasil indeks fagositik prednison sebesar 1,033 dimana hampir sama dengan kontrol CMC-Na yaitu 1,000 tetapi lebih kecil dari kontrol Stimuno sebesar 1,439. Dalam penelitian ini prednison tidak menunjukkan efek immunosupresan (IF <1) hal ini dimungkinkan karena dosis prednison yang digunakan kecil. Peningkatan indeks fagositik

menunjukkan peningkatan fungsi makrofag dalam fagositosis dan imunitas non-spesifik (Wagle *et al.*, 2015). Uji parametrik *One Way ANOVA* dilakukan untuk melihat adanya perbedaan pada aktivitas imunomodulator. Hasil uji indeks fagositik kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol negatif didapatkan hasil $p < 0,05$ yaitu EEDT dosis 200 mg/kgBB berbeda signifikan dengan kontrol CMC-Na, yang menunjukkan bahwa ada peningkatan aktivitas fagosit.

Tabel 2. Rata-rata nilai transmitran (%) menit ke 0 sampai dengan 30

Kelompok	Menit ke-					
	0 (%)	5 (%)	10 (%)	15 (%)	20 (%)	30 (%)
CMC-Na 0,5 % (-)	85,38 ± 4,45	57,05 ± 4,60	70,05 ± 1,09	73,68 ± 2,75	78,78 ± 2,11	80,43 ± 3,72
Stimuno (+ immunostimulan)	79,83 ± 1,53	37,85 ± 18,45	62,98 ± 4,74	66,85 ± 4,79	71,43 ± 2,71	78,10 ± 2,02
Prednison (+ immunosupresan)	81,93 ± 6,69	59,18 ± 6,74	76,68 ± 6,28	79,73 ± 5,82	85,33 ± 4,72	87,33 ± 5,55
EEDDT 50 mg/kgBB	84,20 ± 3,05	52,85 ± 6,99	69,53 ± 1,86	74,25 ± 3,63	77,30 ± 3,14	83,88 ± 3,40
EEDDT 100 mg/kgBB	84,75 ± 5,51	62,75 ± 8,30	76,75 ± 5,40	82,80 ± 10,48	89,88 ± 10,16	91,58 ± 10,16
EEDDT 200 mg/kgBB	86,30 ± 7,84	31,03 ± 8,16	71,70 ± 13,52	79,15 ± 11,34	84,48 ± 8,93	85,73 ± 4,22



Gambar 1. Indeks fagositik dari semua kelompok

Keterangan : EEDT : Ekstrak Etanol 70% Daun Talok; Berbeda bermakna secara statistik. $*p < 0,05$ dibandingkan dengan kontrol yaitu terdapat pada EEDT dosis 200 mg/kgBB dengan $n = 4$. Indeks fagositik < 1 menunjukkan efek immunosupresan; indeks fagositik $< 1,2$ menunjukkan tidak berefek immunostimulasi; indeks fagositik 1,3-1,5 menunjukkan efek immunostimulasi sedang dan indeks fagositik $> 1,5$ menunjukkan efek immunostimulasi yang kuat (Wagner, 1999).

Efek ekstrak etanol 70% daun talok terhadap indeks hati, limpa dan timus. Meskipun hati tidak diklasifikasikan sebagai organ limfoid primer atau sekunder, hati terlibat dalam respon imun karena mengandung sel Kupffer yang mempunyai peran menghilangkan antigen. Limpa (organ limfoid sekunder) adalah bagian penting dari retikuloendotelial (RES) yang mengandung limfosit, monosit, makrofag, dan sel sistem kekebalan tubuh seperti Langerhans, sel dendritik, sel T, dan sel B (Iwo *et al.*, 2000).

Peningkatan berat limpa menunjukkan peningkatan proliferasi limfosit yang dalam sistem kekebalan tubuh, dikenal sebagai sel B dan sel T (Iwo *et al.*, 2000). Pada Tabel 3 dan 4 dapat terlihat kenaikan bobot limpa akibat adanya efek EEDT terhadap aktivitas imunostimulan. Secara statistik didapatkan hasil $p > 0,05$, dimana kelompok perlakuan tidak berbeda bermakna yang menunjukkan pemberian EEDT tidak mempengaruhi berat organ.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa EEDT mampu meningkatkan respon imun non spesifik pada mencit jantan bergalur Swiss Webster. Peningkatan dosis EEDT 50, 100 dan 200 mg/kgBB menunjukkan adanya peningkatan aktivitas imunomodulator dari kriteria imunostimulan lemah hingga kuat.

Tabel 3. Rata-rata berat organ limfoid semua kelompok

Kelompok	Berat hati (g)	Berat limpa (g)	Berat timus (g)
CMC-Na 0,5 % (-)	1,160 ± 0,086	0,108 ± 0,013	0,058 ± 0,015
Stimuno (+ imunostimulan)	1,278 ± 0,193	0,150 ± 0,032	0,057 ± 0,012
Prednison (+ immunosupresan)	1,200 ± 0,213	0,088 ± 0,045	0,047 ± 0,006
EEDT 50 mg/kgBB	1,320 ± 0,203	0,130 ± 0,055	0,050 ± 0,020
EEDT 100 mg/kgBB	1,183 ± 0,107	0,135 ± 0,024	0,038 ± 0,024
EEDT 200 mg/kgBB	1,613 ± 0,382	0,165 ± 0,099	0,060 ± 0,034

Tabel 4. Rata-rata indeks organ limfoid semua kelompok

Kelompok	Indeks organ hati (%)	Indeks organ limpa (%)	Indeks organ timus (%)
CMC-Na 0,5 % (-)	3,899 ± 0,285	0,361 ± 0,040	0,193 ± 0,051
Stimuno (+ imunostimulan)	4,433 ± 0,442	0,524 ± 0,117	0,199 ± 0,037
Prednison (+ immunosupresan)	1,200 ± 0,781	0,088 ± 0,170	0,047 ± 0,015
EEDT 50 mg/kgBB	4,430 ± 0,922	0,431 ± 0,163	0,153 ± 0,052
EEDT 100 mg/kgBB	4,301 ± 0,664	0,486 ± 0,067	0,132 ± 0,074
EEDT 200 mg/kgBB	4,960 ± 1,070	0,511 ± 0,296	0,183 ± 0,095

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% daun talok mempunyai aktivitas imunostimulatori dengan merangsang respon imun non spesifik. Ekstrak etanol 70% daun talok (*Muntingia calabura* L.) dosis 100 dan 200 mg/kgBB mencit dapat memberikan aktivitas imunomodulator terhadap respon imun non spesifik dengan indeks fagositik masing-masing 1,311 (imunostimulan sedang) dan 2,839 (imunostimulan kuat). EEDT mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol dan steroid.

DAFTAR PUSTAKA

- Antari A.L., 2017, *Imunologi dasar*, 1st ed., Deepublish, Yogyakarta.
- Azizah M., Wiraningsih W. and Sari E.R., 2017, Efek imunomodulator ekstrak etanol kulit buah nanas (*Ananas comosus* L.Merr) terhadap mencit putih jantan dengan metode bersihan karbon (*Carbon Clearance*), *Indonesian Journal of Applied Sciences*, 7 (2), 2–5.
- Bunte K., Smith D.J., Chappell M.J., Hassan-Smith Z.K., Tomlinson J.W., Arlt W. and Tiño P., 2018, Learning pharmacokinetic models for in vivo glucocorticoid activation, *Journal of Theoretical Biology*, 14 (455), 222–231.
- Dillasamola D., Aldi Y., Fakhri M., Diliarosta S., Biomechy Oktomalia P. and Noverial, 2018, Immunomodulatory effect test from moringa leaf extract (*Moringa oleifera* L.) with carbon clearance method in male white mice, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11 (9), 241–245.
- Faradilla M. and Iwo M.I., 2014, Efek imunomodulator polisakarida rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe), *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12 (2), 273–278.
- Harborne J., 1987, *Metode fitokimia*, Dalam Padmawinata, K. & Soediro, I., eds. ITB, Bandung.
- Iwo M.I., Soemardji A.A., Retnoningrum D.S., Sukrasno and Ua U.M., 2000, Immunostimulating effect of Pule (*Alstonia scholaris* L. R.Br., Apocynaceae) bark extracts, *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 23 (2–4), 177–183.
- Jantan I., Ahmad W. and Bukhari S.N.A., 2015, Plant-derived immunomodulators: An insight on their preclinical evaluation and clinical trials, *Frontiers in Plant Science*, 6 (655), 1-18.
- Khadijah S., 2017, Efek imunomodulator fraksi n-heksan daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl) Terhadap Respon Hipersensitivitas dan Titer Antibodi Sel Imun Mencit Jantan, Skripsi, Universitas Sumatera Utara.
- Kresno S.B., 2010, *Imunology*, FKUI, Jakarta.
- Lee N.Y.S., Khoo W.K.S., Adnan M.A., Mahalingam T.P., Fernandez A.R. and Jeevaratnam K., 2016, The pharmacological potential of Phyllanthus niruri, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 68 (8), 953–969.
- Mahima, Ingle A.M., Verma A.K., Tiwari R., Karthik K., Chakraborty S., Deb Q., Rajagunalan S., Rathore R. and Dhama K., 2013, Immunomodulators in day to day life: A review, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 16 (17), 826–843.
- Pandey A., Tripathi S. and Pandey C.A., 2014, Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 115 (25), 115–119.
- Patel S. and Vajdy M., 2015, Induction of cellular and molecular immunomodulatory pathways by Vitamin A and flavonoids, *Expert Opinion on Biological Therapy*, 15 (10), 1411–1428.
- Puspitaningrum I., Kusmita L. and Franyoto Y.D., 2017, Aktivitas imunomodulator fraksi etil asetat daun som jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Willd) terhadap respon imun non spesifik, *Jurnal Ilmu*

-
- Farmasi dan Farmasi Klinik*, 14 (1), 24-29.
- Savadi R. V., Yadav R. and Yadav N., 2010, Study on immunomodulatory activity of ethanolic extract of *Spilanthes acmella* Murr. leaves, *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 1 (2), 204–207.
- Wagle N., Nagarjuna S., Sudheer A., Roopesh C., Sapkota H.P., Dangi N.B. and Pradhan R., 2015, Evaluation of immunomodulatory activity of petroleum ether extract of seeds of *pithecellobium dulce* in wistar rats, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7 (9), 471–479.
- Wagner H., 1999, Search for potent immunomodulatory agents from plants and other sources, *Bioassay Methods in Natural Product Research and Drug Development*, 1–39.
- Zakaria Z.A., Mohamed A.M., Jamil N.S.M., Rofiee M.S., Hussain M.K., Sulaiman M.R., Teh L.K. and Salleh M.Z., 2011, In vitro antiproliferative and antioxidant activities of the extracts of *Muntingia calabura* leaves, *American Journal of Chinese Medicine*, 39 (1), 183–200.
- Zalizar L., 2013, Flavonoids of *Phyllanthus niruri* as immunomodulators a prospect to animal disease control, *ARPN Journal of Science and Technology*, 3 (5), 529–532.