

AKTIVITAS IMUNOMODULATOR EKSTRAK ETANOL DAUN KETEPENG CINA (*Cassia alata* L.) TERHADAP RESPON IMUN NON SPESIFIK PADA MENCIT DENGAN METODE CARBON CLEARANCE

IMMUNOMODULATORY ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT FROM KETEPENG CINA LEAVES (*Cassia alata* L.) ON NON-SPECIFIC IMMUNE RESPONSE IN MICE USING THE CARBON CLEARANCE METHOD

Tanti Azizah Sujono^{1*}, Zuhtratul Husna¹

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

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

Dikirim : 2 Agustus 2025, Disetujui : 29 Agustus 2025, Diterbitkan : 30 Agustus 2025

Abstrak

Ketepeng cina (*Cassia alata* L.) merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, flavonoid, asam krisofanat, senyawa glikosida, dan aloeemodina yang diduga berkhasiat sebagai imunomodulator. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas imunomodulator ekstrak etanol daun ketepeng cina (EEDKC) berdasarkan respons imun nonspesifik dengan metode *carbon clearance*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *post test with control group design*. Sejumlah 24 ekor mencit jantan galur Swiss dibagi ke dalam 6 kelompok, yakni kelompok I (kontrol negatif CMC-Na 0,5%), kelompok II (kontrol positif levamisol 2,5 mg/kgBB), kelompok III (kontrol positif metilprednisolon 40 mg/kgBB), serta kelompok IV, V, dan VI yang diberi perlakuan EEDKC dosis 50, 100, dan 200 mg/kgBB. Pada penelitian ini, aktivitas imunomodulator terhadap respons imun nonspesifik dievaluasi berdasarkan parameter indeks fagositosis dan indeks organ limfoid. Hasil uji *carbon clearance* kelompok perlakuan EEDKC dosis 50 dan 100 mg/kgBB menunjukkan indeks fagositosis (k) sebesar 1,49 dan 1,47 (termasuk dalam kategori imunostimulan sedang (*moderate*) yakni memiliki k sebesar 1,3-1,5), sedangkan EEDKC dosis 200 mg/kgBB menunjukkan efek imunostimulan kategori kuat dengan nilai $k > 1,5$ yakni 1,54. Hasil uji indeks organ limfoid menunjukkan tidak adanya perubahan yang signifikan pada indeks hati, limpa, dan timus setelah perlakuan EEDKC selama 7 hari. Meskipun indeks organ limfoid tidak mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok kontrol, EEDKC disimpulkan memiliki efek imunostimulan karena dapat meningkatkan indeks fagositosis $> 1,3$.

Kata Kunci: *Carbon clearance*, *Cassia alata* L., imunomodulator, indeks fagositosis

Abstract

Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) is a plant that contains secondary metabolites such as alkaloids, tannins, flavonoids, chrysophanic acid, glycosides, and aloeemodin, which are thought to be effective as immunomodulators. This study aims to test the immunomodulatory activity of the ethanol extract of ketepeng cina leaves (EEDKC) based on non-specific immune responses using the carbon clearance method. This study is an experimental study with a post-test with control group design. A total of 24 male Swiss mice were divided into 6 groups, namely group I (negative control CMC-Na 0.5%), group II (positive control levamisole 2.5 mg/kgBW), group III (positive control methylprednisolone 40 mg/kgBW), and groups IV, V, and VI were treated with EEDKC at doses of 50, 100, and 200 mg/kgBW. In this study, the immunomodulatory activity on non-specific immune responses was evaluated using the phagocytosis index and lymphoid organ index. The

carbon clearance test results for the 50 and 100 mg/kgBW EEDKC treatment groups showed a phagocytosis index (k) of 1.49 and 1.47, respectively (categorized as moderate immunostimulants, with k 1.3-1.5), while EEDKC at dose 200 mg/kgBW demonstrated a strong immunostimulant effect with k value >1.5 , namely 1.54. The lymphoid organ index test results showed no significant changes in the liver, spleen, and thymus indices after 7 days of EEDKC treatment. Although the lymphoid organ index did not increase compared to the control group, EEDKC was concluded to have an immunostimulant effect because it increased the phagocytosis index by >1.3 .

Keywords: Carbon clearance, *Cassia alata* L., immunomodulator, phagocytosis index

PENDAHULUAN

Tubuh memiliki sistem imun yang dapat mencegah dari penyakit yang disebabkan oleh bakteri, virus, dan parasit. Sistem imun diperlukan untuk menjaga keutuhan tubuh agar terhindar dari bahaya yang ditimbulkan oleh antigen. Senyawa yang berperan dalam memodulasi sistem imun tubuh disebut imunomodulator (Baratawidjaja & Rengganis, 2018). Mekanisme aksi imunomodulator adalah mengembalikan fungsi imun yang terganggu (imunorestorasi), meningkatkan fungsi sistem imun (imunostimulasi) dan menekan kekuatan imun dalam (imunosupresi) (Puspitaningrum *et al.*, 2017).

Perlindungan terhadap penyakit, terutama penyakit infeksi disebut sebagai imunitas. Kumpulan sel, jaringan dan molekul yang berperan dalam melawan infeksi disebut sistem imun, sedangkan respon dari sel dan molekul ini untuk melindungi terhadap infeksi disebut respon imun (Abbas *et al.*, 2016). Respon imun dapat dibagi menjadi dua kategori, yaitu respon imun spesifik dan respon imun non spesifik (Baratawidjaja & Rengganis, 2018). Respon imun spesifik adalah respon imun yang diperoleh karena adanya antigen tertentu, sedangkan respon imun non spesifik adalah respon imun bawaan yang sudah ada dalam tubuh meskipun tanpa adanya paparan dari antigen sebelumnya (Kresno, 2001).

Ketepeng cina (*Cassia alata* L.) merupakan tumbuhan yang dapat dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati panu, kadas, kurap, cacingan, sembelit, malaria, herpes, influenza, dan sariawan. Kandungan senyawa daun ini terdiri dari alkaloid, tanin, flavonoid, asam krisofanat, senyawa glikosida, aloemodina, zat pahit, dan zat samak (Mahmudah *et al.*, 2018). Tumbuhan yang mengandung senyawa flavonoid, polisakarida, lakton, alkaloid, diterpenoid dan glikosida dapat memodulasi sistem imun dengan mekanisme merangsang aktivitas fagositosis makrofag, mengaktifkan sel Natural Killer (NK), merangsang produksi interferon gamma (IFN- γ), merangsang produksi sitokin interleukin-2 (IL-2) dan proliferasi limfosit T (Jantan *et al.*, 2015).

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun ketepeng cina memiliki aktivitas imunostimulan dengan meningkatkan aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag pada mencit yang diinduksi *Staphylococcus aureus* (Kusmardi *et al.*, 2007). Namun demikian, sampai saat ini belum ada penelitian mengenai aktivitas imunomodulator ekstrak etanol daun ketepeng cina terhadap respons imun nonspesifik menggunakan metode *carbon clearance*, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan penelitian sebelumnya dengan metode yang berbeda, yaitu metode *carbon clearance* dengan parameter indeks fagositosis dan indeks organ limfoid. Alasan penggunaan metode *carbon clearance* karena dapat menggambarkan respon imun non spesifik dan mudah dilakukan dibandingkan dengan

metode yang lain (Alfitasari *et al.*, 2017). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian ini untuk membuktikan khasiat ekstrak etanol daun ketepeng cina terhadap respon imun non spesifik dengan metode *carbon clearance*.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain timbangan mencit (*triple beam balance*), rotary evaporator (Stuart), neraca analitik (Ohaus), vakum Buchner, spektrofotometer visibel (Shimadzu Corporation), almari pengering, mikropipet 5-100 μL dan 100-1000 μL (Socorex), *yellow tips* dan *blue tips* (Biologix), spuit injeksi 1 mL (Onemed), *water bath* (Mettler), peralatan gelas (Pyrex), dan seperangkat alat bedah.

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain yaitu daun ketepeng cina yang diambil dari daerah Klaten, Jawa Tengah, etanol 70%, akuades, karbon (Indian ink), asam asetat (p.a), gelatin (teknis), NaCl fisiologis, mencit jantan galur Swiss, CMC Na (teknis), levamisol (Grade farmasetik, PT. Konimex Solo), metilprednisolon (PT. Novell), dan EDTA (Titriplex III).

Jalannya penelitian

Pengambilan sampel

Daun ketepeng cina diambil dari Kabupaten Klaten, Jawa Tengah pada bulan Februari 2021. Hasil determinasi tanaman di UPT Laboratorium Universitas Setia Budi, sampel adalah benar tanaman ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) berdasarkan surat nomor 218/DET/UPT-LAB/5.04.2021.

Ekstraksi daun ketepeng cina

Daun ketepeng cina segar yang telah dicuci dengan air mengalir, dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan dalam almari pengering selama 3 hari. Selanjutnya, simplisia diblender hingga halus dan dimaserasi dalam etanol 70% dengan rasio (1:10) selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Filtrat yang diperoleh ditampung (filtrat 1), dan ampasnya diremaserasi selama 3 hari. Filtrat hasil remaserasi (filtrat 2) dan hasil maserasi (filtrat 1) digabungkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 60 °C hingga terbentuk ekstrak kental.

Skrining fitokimia

- Uji Flavonoid: 100 mg sampel ditambahkan ke 100 mL air, lalu dipanaskan sampai mendidih selama 5 menit. Filtrat diambil sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dicampurkan dengan 1 mL amil alkohol, 1 mL HCl pekat, dan 0,1 mg serbuk Mg, kemudian dikocok. Hasil positif flavonoid terbentuknya warna kuning hingga merah (Harborne, 1987).
- Uji Alkaloid: 500 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah 2 tetes H_2SO_4 2N, kemudian dituangkan ke dalam plat tetes. Hasil positif apabila ada endapan berwarna putih ketika ditetesi dengan pereaksi Mayer, ada endapan coklat ketika ditetesi dengan pereaksi Wagner dan ada endapan jingga ketika ditetesi dengan pereaksi Dragendorff (Erviani *et al.*, 2019).
- Uji Saponin: 500 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan air panas dan didiamkan 30 menit, kemudian ditambah 1 tetes HCl 2N. Jika terdapat busa yang bertahan selama ± 10 menit, maka mengandung steroid (Erviani *et al.*, 2019).
- Uji Steroid/triterpenoid: 500 mg sampel ditambah 2 mL kloroform, 5 tetes anhidrida asetat, dan 3 tetes H_2SO_4 2N. Apabila berubah menjadi biru menunjukkan adanya kandungan

- steroid, dan apabila pada lapisan permukaan terbentuk warna merah kecoklatan menunjukkan adanya kandungan triterpenoid (Erviani *et al.*, 2019).
- e) Uji Tanin: 20 mg sampel ditambah etanol dan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Sampel mengandung tanin apabila terbentuk warna hijau atau hitam kebiruan (Oktarya & Saputra, 2015).

Uji bersihan karbon

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta melalui surat kelaikan etik No. 350/A.1/KEPK-FKUMS/IV/2021. Pengujian aktivitas imunomodulator dilakukan menggunakan mencit jantan galur Swiss usia 8-10 minggu dengan bobot 20-30 g. Mencit diaklimatisasi selama 1 minggu untuk beradaptasi dengan lingkungan baru agar terhindar dari stres. Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing terdiri dari 4 ekor mencit. Kelompok I kontrol negatif CMC-Na 0,5 %, kelompok II kontrol positif imunostimulan levamisol 2,5 mg/kgBB, kelompok III kontrol positif immunosupresan metilprednisolon 40 mg/kgBB, Kelompok IV; V; dan VI diberi perlakuan ekstrak etanol daun ketepeng cina (EEDKC) dengan dosis bertingkat yaitu 50 mg, 100, dan 200 mg/kgBB. Perlakuan diberikan secara peroral selama 7 hari berturut-turut. Pada hari ke-8, mencit diambil sampel darah sebanyak 20 μL melalui vena ekor pada menit ke-0 (sebagai *baseline*). Kemudian mencit diinjeksi intravena dengan suspensi karbon dalam gelatin 0,1 mL/10 gBB melalui vena ekor. Darah diambil sebanyak 20 μL pada menit ke: 5, 10, 15, 20, dan 30 setelah penyuntikan karbon. Darah selanjutnya dicampur dengan 3 mL asam asetat 1% dan diukur transmitansinya dengan spektrofotometer pada λ 675 nm. Aktivitas fagositik ditentukan dengan membandingkan kemiringan garis regresi linier antara 100% transmitan dan waktu perlakuan pada kelompok kontrol dan kelompok uji (Puspitaningrum *et al.*, 2017). Nilai indeks fagositosis (k) <1,2 tidak memiliki efek imunostimulan, 1,3 - 1,5 memiliki efek imunostimulan sedang dan jika (k) >1,5 memiliki efek imunostimulan kuat. Berikut rumus konstanta fagositosis (K) (persamaan 1) dan indeks fagositosis (IF) (persamaan 2) :

$$(K) = \log A(n) - \frac{\log A(n-1)}{t(n-1) - t(n)} \quad (1)$$

Keterangan:

K = konstanta fagositosis

A = transmitan waktu ke-0

t = waktu

n = periode pengambilan (1,2,3,4)

$$(IF) = \frac{\text{Konstanta fagositosis mencit Z}}{\text{Konstanta fagositosis rata-rata}} \quad (2)$$

Keterangan :

k = indeks fagositosis

Mencit Z = mencit yang telah diperlakukan dan ditentukan harga konstanta fagositosisnya

Uji organ limfoid

Mencit dikorbankan dengan dislokasi leher pada hari ke-8. Bagian dada dan perut dibasahi dengan alkohol 70%, kemudian dibedah dan diambil organ hati, limpa, dan timus. Organ-organ tersebut dibersihkan dengan NaCl fisiologis 0,9% dari darah, lemak yang menempel, kemudian ditimbang dan dihitung indeks organnya (persamaan 3).

$$\text{Indeks Organ} = \frac{\text{Berat Organ}}{\text{Bobot Mencit}} \times 100 \quad (3)$$

Analisis data

Data yang telah didapat diuji normalitasnya dengan Shapiro-Wilk dan homogenitasnya dengan Levene test. Data yang terdistribusi normal dan homogen diuji dengan ANOVA 1 arah. Data yang terdistribusi tidak normal atau tidak homogen dilanjutkan dengan uji nonparametrik Kruskal-Wallis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi daun ketepeng cina

Maserasi merupakan proses perendaman sampel untuk menarik komponen yang diinginkan dengan kondisi dingin diskontinyu. Kelebihan metode ini yaitu lebih mudah dilakukan, pelarut yang digunakan lebih sedikit, dan tidak perlu ada pemanasan, namun membutuhkan waktu yang relatif lama (Putra *et al.*, 2014). Pelarut etanol 70% digunakan karena merupakan pilihan pelarut utama untuk ekstraksi metabolit sekunder yang belum diketahui strukturnya (Saifudin, 2014). Bobot simplisia daun ketepeng cina yang akan diekstraksi yaitu 219,89 g dan setelah diekstraksi diperoleh ekstrak kental sebanyak 40,17 g dengan rendemen sebesar 18,27%.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan metode untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada bahan alam (Vifta & Advistasari, 2018). Identifikasi senyawa fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa apa saja yang terkandung dalam daun ketepeng cina. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi identifikasi golongan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, dan tanin (Tabel 1). Hasil skrining fitokimia dengan uji tabung pada daun ketepeng cina mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin. Hasil yang diperoleh ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Mahmudah *et al.* (2018), yakni daun ketepeng cina mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, asam krisofanat, senyawa glikosida, aloemodina, zat pahit, dan zat samak.

Tabel 1. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun ketepeng cina

Uji fitokimia	Hasil positif menurut pustaka	Hasil
Flavonoid	Terbentuk warna kuning samapi merah (jika ditambah HCl pekat 2 N dan serbuk Mg)	+
Alkaloid	Terbentuk endapan jingga (jika ditambah pereaksi Dragendorff)	+
Saponin	Terdapat busa bertahan selama $\pm$ 10 menit (jika ditambah HCl 2N)	-
Steroid	Warna larutan berubah menjadi biru (jika ditambah H ₂ SO ₄ 2N)	-
Triterpenoid	Terbentuk warna merah kecoklatan pada lapisan permukaan (jika ditambah H ₂ SO ₄ 2N)	-
Tanin	Terbentuk warna hitam kebiruan atau hijau (jika ditambah FeCl ₃)	+
Kerangan: + (mengandung senyawa)		- (tidak mengandung senyawa)

Berdasarkan Tabel 1, kandungan metabolit sekunder dalam EEDKC antara lain alkaloid, tanin, dan flavonoid. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Mahmudah *et al.*, (2018). Berdasarkan hasil penelitian Jantan *et al.*, (2015), tumbuhan yang mengandung senyawa flavonoid, polisakarida, lakton, alkaloid, diterpenoid, dan glikosida dapat berkhasiat sebagai imunomodulator dengan cara memodulasi sistem imun melalui stimulasi aktivitas fagositosis makrofag, mengaktifkan sel Natural Killer, menstimulai produksi IFN- γ , menstimulasi produksi sitokin IL-2, dan proliferasi limfosit T. Dengan adanya kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol daun ketepeng cina yakni flavonoid dan alkaloid, dimungkinkan EEDKC berkhasiat sebagai imunostimulan.

Uji bersihan karbon

Penelitian ini menggunakan karbon sebagai antigen karena dalam keadaan normal karbon tidak ada dalam tubuh, memiliki ukuran partikel kecil dan stabil, sehingga tidak menyebabkan penyumbatan pada pembuluh darah dan paru-paru (Dillasamola, *et al.*, 2018). Namun karena bobot molekul (BM) karbon hanya sekitar 100.000 (Marliana & Widhyasih, 2018) sehingga perlu disuspensikan dengan gelatin agar memenuhi syarat sebagai antigen, yakni memiliki BM yang tinggi antara 20.000-250.000 g/mol (Suryani, *et al.*, 2009). Penggunaan NaCl fisiologis 0,9% (isotonis) dimaksudkan agar sel darah tidak mengembang dan pecah (Rahayu, 2011). Nilai % transmittan pada menit ke-0 sampai 30 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai transmittan (%) menit ke-0 sampai ke-30 pada kelompok perlakuan (mean $\pm$ SD)

Kelompok perlakuan (mg/kgBB)	Menit ke-					
	0 (baseline)	5	10	15	20	30
CMC-Na 0,5%	86,03 $\pm$ 2,84	77,46 $\pm$ 3,19	82,80 $\pm$ 2,54	86,60 $\pm$ 2,08	88,25 $\pm$ 2,23	88,05 $\pm$ 1,74
Levamisol 2,5	87,78 $\pm$ 2,72	68,93 $\pm$ 2,97	88,55 $\pm$ 2,37	89,38 $\pm$ 2,13	91,70 $\pm$ 0,35	93,00 $\pm$ 2,62
Metilprednisolon 40	87,73 $\pm$ 2,28	71,93 $\pm$ 5,01	81,40 $\pm$ 5,40	86,03 $\pm$ 6,38	87,15 $\pm$ 1,21	87,60 $\pm$ 3,71
EEDKC 50	91,28 $\pm$ 1,54	70,95 $\pm$ 11,33	87,20 $\pm$ 3,17	93,13 $\pm$ 2,32	94,43 $\pm$ 2,56	91,83 $\pm$ 4,72
EEDKC 100	92,30 $\pm$ 4,83	73,55 $\pm$ 6,59	87,38 $\pm$ 4,69	90,13 $\pm$ 4,23	91,28 $\pm$ 2,55	92,21 $\pm$ 3,55
EEDKC 200	88,85 $\pm$ 2,23	71,18 $\pm$ 5,67	85,88 $\pm$ 7,80	87,68 $\pm$ 2,38	87,00 $\pm$ 7,65	83,63 $\pm$ 10,03

Keterangan : *baseline* (sebelum diinduksi karbon), EEDKC : Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina; jumlah hewan uji tiap kelompok (n= 4 ekor)

Aktivitas fagositik ditentukan dengan membandingkan kemiringan garis regresi linier dari 100-% transmittan terhadap waktu perlakuan pada kelompok kontrol dan uji. Nilai kemiringan garis regresi linier (k) menunjukkan besaran indeks fagositik (Tabel 3). Aktivitas fagositosis dari sel-sel fagositik terhadap partikel karbon yang berperan sebagai antigen akibat adanya pemberian EEDKC ditunjukkan dengan nilai rata-rata indeks fagositosis (Puspitaningrum *et al.*, 2017). Aktivitas imunomodulator ditunjukkan oleh indeks fagositosis yaitu jika apabila nilai indeks fagositosis (k) <1,2 tidak memiliki efek imunostimulan, nilai indeks fagositosis 1,3-1,5 maka artinya memiliki efek imunostimulan yang sedang dan apabila nilai indeks fagisitosis (k) >1,5 maka artinya memiliki efek imunostimulan kuat. Peningkatan aktivitas fagositosis dari

makrofag dan peningkatan imunitas nonspesifik ditunjukkan dengan adanya peningkatan indeks fagositik dalam uji bersihan karbon (Rinki & Mirsha, 2011).

Tabel 3. Nilai indeks fagositosis setelah pemberian EEDKC selama 7 hari

Kelompok perlakuan	Rata-rata indeks fagositosis (k)	Kategori efek imunomodulator
CMC-Na 0,5%	0,94	-
Levamisol 2,5 mg/kgBB	1,48	Imunostimulan sedang
Metilprednisolon 40 mg/kgBB	0,79	Imunosupresan
EEDKC 50 mg/kgBB	1,49	Imunostimulan sedang
EEDKC 100 mg/kgBB	1,47	Imunostimulan sedang
EEDKC 200 mg/kgBB	1,54	Imunostimulan kuat

Keterangan: EEDKC : Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina; indeks fagositosis (k) < 1,2 tidak memiliki efek imunostimulan, 1,3-1,5 memiliki efek imunostimulan sedang dan jika (k) > 1,5 memiliki efek imunostimulan kuat; jumlah hewan uji tiap kelompok (n : 4 ekor)

Berdasarkan Tabel 3, ekstrak etanol daun ketepeng cina menunjukkan khasiat sebagai imunostimulan kategori sedang pada dosis 50 dan 100 mg/kgBB dan imunostimulan kuat pada dosis 200 mg/kgBB. Hal tersebut berarti bahwa ketiga dosis ekstrak etanol daun ketepeng cina meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag (memiliki efek imunostimulan). Hasil ini bisa memperkuat hasil penelitian yang dilakukan oleh Kusmardi *et al.*, (2007), bahwa ekstrak etanol daun ketepeng cina mampu meningkatkan aktivitas dan fagositosis makrofag (memiliki efek imunostimulan) pada mencit yang diinduksi antigen berupa *Staphylococcus aureus*. Hasil kelompok perlakuan kontrol positif levamisol sesuai dengan teori bahwa levamisol sebagai imunostimulan dengan meningkatkan fungsi sel limfosit T (Lee *et al.*, 1998). Levamisol dapat meningkatkan efek antigen, mitogen, limfokin dan faktor kemotaktik untuk merangsang limfosit, granulosit dan makrofag (Baratawidjaja & Rengganis, 2018). Pada kelompok perlakuan kontrol positif metilprednisolon menunjukkan indeks fagositik (k) sebesar 0,79, hal ini sesuai dengan teori bahwa metilprednisolon diindikasikan sebagai agen anti-inflamasi atau imunosupresan (Aberg *et al.*, 2009).

Uji organ limfoid

Organ limfoid merupakan organ yang dibutuhkan untuk pematangan deferensiasi dan proliferasi limfosit yang berhubungan dengan respon imun, maka dari itu perlu dilakukan pengukuran indeks organ limfoid dan hati. Organ yang digunakan yaitu limpa yang termasuk dalam organ limfoid sekunder, timus yang merupakan organ limfoid primer, dan hati. Meskipun hati bukan merupakan organ limfoid, tetapi hati memiliki peran yang penting dalam respon imun karena mengandung sel-sel Kupffer. Limpa termasuk organ limfoid sekunder yang mengandung sel limfosit B dan T yang terlibat dalam proses respons imun. Sel dendritik dan makrofag di limpa berfungsi sebagai Antigen Presenting Cell atau APC yang dapat menyediakan antigen untuk sel limfoid. Proses eliminasi yang dilakukan oleh makrofag terutama terjadi di hati dan sisanya di limpa. Makrofag di hati dan limpa umumnya terjadi proses opsonisasi yang berperan penting untuk proses fagositosis benda asing (Deng *et al.*, 2009). Makrofag berperan penting dalam semua tahapan pertahanan tubuh baik imunitas

innate maupun imunitas adaptif (Kim *et al.*, 2001). Nilai indeks organ limfoid setelah perlakuan EEDKC selama 7 hari dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Berat dan indeks organ hati, limpa dan timus setelah diberi perlakuan selama 7 hari

Kelompok perlakuan (mg/kgBB)	BB Mencit	Organ hati		Organ limpa		Organ timus	
		Berat (g)	Indeks (%)	Berat (g)	Indeks (%)	Berat (g)	Indeks (%)
CMC-Na 0,5%	28,25 ± 5,19	1,68 ± 0,39	6,07 ± 1,77	0,49 ± 0,37	1,72 ± 1,13	0,06 ± 0,02	0,20 ± 0,02
Levamisol 2,5	30,50 ± 3,72	1,58 ± 0,45	5,12 ± 1,04	0,26 ± 0,10	0,87 ± 0,42	0,07 ± 0,02	0,23 ± 0,06
Metilprednisolon 40	29,38 ± 2,32	1,76 ± 0,27	5,97 ± 0,46	0,38 ± 0,08	1,29 ± 0,22	0,05 ± 0,01	0,18 ± 0,03
EEDKC 50	24,38 ± 1,60	1,32 ± 0,21	5,41 ± 0,89	0,21 ± 0,07	0,84 ± 0,29	0,07 ± 0,02*	0,28 ± 0,08*
EEDKC 100	29,25 ± 2,02	1,39 ± 0,32	4,80 ± 1,39	0,32 ± 0,07	1,08 ± 0,20	0,05 ± 0,01	0,18 ± 0,04
EEDKC 200	29,00 ± 4,56	1,47 ± 0,20	5,10 ± 0,33	0,21 ± 0,12	0,70 ± 0,31	0,06 ± 0,02	0,20 ± 0,06

Keterangan: EEDKC (Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina); * mengalami peningkatan berat dan indeks organ

Menurut Faradilla & Iwo (2014) peningkatan sel imun yang ada di dalam organ hati, limpa, dan timus diindikasikan dengan adanya peningkatan bobot organ tersebut. Berdasarkan Tabel 4 pemberian EEDKC dosis 50 mg/kgBB meningkatkan berat organ maupun indeks organ timus. Sedangkan dosis 100 dan 200 mg/kgBB baik berat organ maupun indeks organ hati, limpa, dan timus lebih kecil dibandingkan kontrol negatif CMC-Na 0,5%. Indeks organ yang telah diperoleh selanjutnya diuji statistik dengan software SPSS. Hasil uji normalitas dan homogenitas indeks hati, limpa, dan timus tidak terdistribusi normal dan tidak homogen (sig. <0,05), selanjutnya dilakukan uji Kruskal Wallis dan diperoleh indeks hati dengan nilai Asymp.sig 0,589; indeks limpa dengan nilai Asymp.sig. 0,289 dan indeks timus dengan nilai Asymp.sig 0,113 (Asymp.sig. > 0,05) yang berarti bahwa tidak ada perbedaan antar kelompok perlakuan.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun ketepeng cina (EEDKC) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin. EEDKC dosis 50, 100, dan 200 mg/kgBB memiliki aktivitas imunostimulan tanpa disertai peningkatan indeks organ limfoid.

PERSANTUNAN

Terima kasih kami ucapkan kepada Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta yang telah membiayai penelitian ini melalui PID Penelitian Kolaboratif Dosen dan Mahasiswa tahun 2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Litchman, A.H., Pillai, S. (2016). *Imunologi dasar abbas : fungsi dan kelainan sistem imun*. Edisi kelima, Elsevier Science, Singapore.
- Aberg, J.A., Lacy, C., Armstrong, L., Goldman, M., Lance L.L. (2009). *Drug information handbook*. 17th Edition, American Pharmacist Association.
- Alfitasari, D.A., Kusuma, A.M., Hakim Z.R. (2017). Aktivitas immunodulator ekstrak etanol umbi bawang merah (*Allium cepa* L.) terhadap respon imun non spesifik pada mencit jantan galur Balb/C dengan metode carbon clearance. *Biosfera*, 34 (2), 75–79. <https://doi.org/10.20884/1.mib.2017.34.2.482>.
- Baratawidjaja, K.G., Rengganis I. (2018). *Imunologi dasar*. Edisi Ke-12. Balai Penerbit FK UI, Jakarta.

- Deng, X., Wu, F., Liu, Z., Lu, M., Li, L., Ni, Q., Jiao, Z., Wu, M. and Liu Y. (2009). The splenic toxicity of water soluble multi-walled carbon nanotubes in mice. *Carbon*, 47 (6), 1421–1428. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2008.12.032>.
- Dillasamola, D., Aldi, Y., Fakhri, M., Diliarosta, S., Oktomali, B.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. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i9.26703>.
- Erviani, A.E., Arif, A.R. and Nurfahmiatunnisa. (2019). Analisis rendemen dan skrining fitokimia ekstrak cacing laut *Eunice sicilensis*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 10 (1), 1–7. <https://doi.org/10.20956/jal.v10i1.6152>.
- 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.B. (1987). *Metode fitokimia*. Diterjemahkan oleh Iwang, S. Penerbit ITB. Bandung.
- Jantan, I., Ahmad, W., Nasir, S. and Bukhari, A. (2015). Plant-derived immunomodulators : an insight on their preclinical evaluation and clinical trials. *Plant Science*, 6 (August), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00655>.
- Kim, K. I., Shin, K. S., Hong, B. S., Shin, D. H., Cho, H. Y., Chang, H. I., Yoo, S. M., and Yang H.C. (2001). Effects of polysaccharides from rhizomes of *Curcuma zedoaria* on macrophage functions. *Biosci Biotechnol Biochem*, 65 (11), 2369–77. <https://doi.org/10.1271/bbb.65.2369>.
- Kresno, S.B. (2001). *Diagnosis dan prosedur laboratorium*. Edisi IV, FKUI, Jakarta.
- Kusmardi, Kumala, S., Triana, E.E. (2007). Efek imunomodulator ekstrak daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag. *Makara Kesehatan*, 11 (2), 50–53.
- Lee, S. J., Chung, H. Y., Maier, C., Wood, A. R., Dixon, a. R., Marby J. (1998). Estrogenic flavonoids from *Artemisia vulgaris* L. *Agricultural and Food Chemistry*, 46 (8), 3325–3329. <https://doi.org/10.1021/jf9801264>.
- Mahmudah, R., Abdullah, N., Pratiwi, A. and Asrhah, M. (2018). Uji efektifitas ekstrak etanol pada daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) terhadap mikroba penyebab sariawan (*Stomatitis aphtosa*). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 4 (1). <https://doi.org/10.35311/jmpi.v4i1.23>.
- Marliana, N. dan Widhyasih, R.M. (2018). *Imunoserologi*, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Oktarya, Z., dan Saputra, R. (2015). Pengaruh jenis pelarut terhadap jumlah ekstrak dan daya antifungi daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) terhadap jamur *Trychophyton* sp. *Jurnal Photon*, 5 (2), 15–21. <https://doi.org/10.37859/JP.V5I2.581>.
- Puspitaningrum, I., Kusmita, L. and Franyoto, Y.D. (2017). Aktivitas imunomodulator fraksi etil asetat daun som Jawa (*Talinum triangulare* (Jacq.) Willd) terhadap respon imun non spesifik. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 14 (1), 24–29. <https://doi.org/10.31942/jiffk.v14i1.1768>.
- Putra, A.A.B., Bogoriani, N.W. and Diantariani, N. P, Sumadewi, N.L.U. (2014). Ekstraksi zat warna alam dari bonggol tanaman pisang (*Musa paradisiaca* L.) dengan metode maserasi, refluks, dan sokletasi. *Jurnal Kimia*, 8 (1).
- Rahayu, I. (2011). Aktivitas imunomodulator dari fraksi air herba songgolangit (*Tridax procumbens* L.)

terhadap mencit jantan galur balb/c dengan metode carbon clearance dan neutrophil adhesion. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta, Yogyakarta.

Rinki, S. and Mirsha, R.N. (2011). Immunomodulatory activity of *Triphala megaext*. *International Journal of Research in Pharmaceutical & Biomedical Sciences*, 2 (2), 575–579.

Saifudin, A. (2014). *Senyawa alam metabolit sekunder teori, konsep, dan teknik pemurnian*. Deepublish, Yogyakarta.

Suryani, N., Sulistiawati, F., Fajriani, A. (2009). Kekuatan gel gelatin tipe B dalam formulasi granul terhadap kemampuan mukoadhesif. *Makara Kesehatan*, 13 (1), 1–4.

Vifta, R.L., dan Advistasari, Y.D. (2018). Skrining fitokimia, karakterisasi, dan penentuan kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi-fraksi buah parijoto (*Medinilla speciosa* B.). *Prosiding Seminar Nasional Unimus*. 1, 8–14.