

Pengaruh Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Stennis) Terhadap Aktivitas Fagositosis Monosit

Wahyukundari Ma*, Praharani D*

*Staf Bagian Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Correspondence : Sholehahmelok@Yahoo.Com

Abstract

Background. The immune system can be improved by increasing the phagocytic activity of monocytes. Binahong leaves have been used extensively in the field of health; but no study about the effects of leaf extracts binahong against the phagocytic activity of monocytes. **Aim.** Knowing the influence of leaf extract binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis) against the phagocytic activity of monocytes. **Method.** Experimental in vitro with the post test only control group design. Suspension isolate of monocytes were divided into 4 groups (each consisting of 6 wells) are: K (control); EDB 25% (leaf extract was incubated binahong 25%); EDB 50% (leaf extract was incubated binahong 50%); EDB 100% (leaf extract was incubated binahong 100%). Isolates monocytes is exposed latex beads. Parameter of phagocytic activity is expressed in the average number of particles of latex beads that difagosit per 100 monocytes. **Results.** Mann-Whitney test showed that average number of particles of latex beads the control group is smaller than the group EDB 100% and greater than group EDB 25%. The average number of particles of latex beads the group EDB 100% identical to the group EDB 50% but greater than group EDB 25%. **Conclusion.** Binahong leaf extract (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis) can increase the phagocytic activity of monocytes; binahong leaf extract 50% and 100% are highest.

Key words: immunomodulatory, binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis)

Pendahuluan

Tubuh manusia memiliki sistem imun untuk mempertahankan keutuhannya dari serangan berbagai bahan dalam lingkungan hidup seperti bakteri, virus, jamur, toksin serta jaringan asing. Pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi berbagai serangan mikroorganisme (bakteri, virus, jamur, protozoa, riketsia) adalah sistem imun non spesifik. Pada sistem imun ini sel mononuklear (monosit dan makrofag) serta granulosit merupakan sel utama yang berperan.¹

Monosit adalah salah satu sel darah putih yang berfungsi sebagai pendahulu sel makrofag. Sel ini melindungi tubuh terhadap organisme penyerang dengan cara fagositosis yaitu menelan mikroorganisme patogen. Monosit merupakan komponen penting sitem fagosit dan berasal dari sel induk sumsum tulang. Di sumsum tulang monosit hanya tinggal

sebentar, kemudian masuk ke aliran darah dan beredar selama 20-40 jam. Setelah itu masuk ke jaringan dan bertransformasi menjadi makrofag.²

Peningkatan pertahanan tubuh dapat dilakukan dengan meningkatkan aktivitas fagositosis monosit menggunakan imunostimulan yaitu bahan yang dapat meningkatkan kerja komponen-komponen sistem imun.¹ Imunostimulan bisa berupa bahan yang berasal dari tanaman (bahan alam). Pemanfaatan bahan alam semakin diminati masyarakat karena relatif tidak memiliki efek samping dan juga harganya tidak mahal bila dibandingkan bahan sintetik.

Salah satu bahan alam yang memiliki potensi untuk diteliti adalah binahong. Selama ini daunnya sudah banyak dimanfaatkan secara tradisional, antara lain untuk mempercepat pemulihan kesehatan setelah operasi, melahirkan, khitan, segala luka dalam, radang usus, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, mencegah stroke, maag, asam urat, menambah dan mengembalikan vitalitas daya tahan tubuh, wazir (ambeien), melancarkan buang air kecil, buang air besar, diabetes dan lain-lain.³ Mengingat spektrum yang cukup luas dalam pemanfaatannya, sangat mungkin efek yang ditimbulkan adalah efek positif sebagai imunostimulan. Untuk menguji hal itu, penelitian dilakukan untuk melihat pengaruhnya terhadap aktivitas fagositosis monosit.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental *in vitro* dengan rancangan *the post test only control group design*. Variabel tergantung adalah aktivitas fagositosis monosit, sedangkan variabel bebas adalah ekstrak daun binahong (EDB) konsentrasi 25%, 50% dan 100%. Variabel kendali adalah jenis dan konsentrasi monosit serta metode ekstraksi.

Pembuatan ekstrak daun binahong. Daun binahong dicuci di bawah air mengalir, diiris tipis-tipis, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 24 jam, dihaluskan dengan *blender* dan diayak sehingga diperoleh serbuk daun binahong. Serbuk daun binahong dimaserasi menggunakan etanol 70% sampai seluruh bagian terendam dengan perbandingan 1:10 (1 bagian serbuk daun binahong dalam 10 bagian larutan etanol) selama 5 hari dalam wadah berbahan gelas dan bermulut lebar. Setiap hari dilakukan pengadukan selama 5 menit. Ekstrak kemudian disaring dengan corong Buchner sehingga

didapatkan ekstrak cair. Ekstrak cair diuapkan sampai bebas dari pelarut etanol menggunakan rotavaporator pada suhu 40°C selama 3 jam hingga ekstrak menjadi kental, selanjutnya dilakukan pengenceran dengan pelarut aquadest steril untuk mendapatkan konsentrasi 25% dan 50%.

Preparasi isolat monosit. Monosit disolasi dengan metode *ficoll hypaque centrifugation*. Sebanyak 12 cc darah (*heparinized whole blood*) dibagi menjadi dua, disentrifugasi dengan kecepatan 600 rpm selama 10 menit pada suhu kamar. Serum yang mengandung platelet dipisahkan, sisa darah diencerkan dengan HBSS sehingga menjadi 9 cc. 2 tabung falcon disiapkan dan masing-masing diisi 3 cc *ficoll*. Darah dilapiskan secara berhati-hati di atas lapisan *ficoll* dengan pipet *disposable*. Sentrifugasi 1400 rpm selama 30 menit pada suhu kamar, sehingga terbentuk 4 lapisan dari atas ke bawah adalah: a) plasma, b) mononuklear, c) *ficoll* dan d) polinuklear+RBC. Lapisan mononuklear (*interface plasma-ficoll*) yang mengandung sel-sel mononuklear (limfosit dan monosit) dipisahkan dan dimasukkan dalam tabung falcon, untuk selanjutnya dilakukan proses isolasi monosit.

Isolasi monosit. Sel-sel mononuklear dicuci dengan HBSS dan disentrifugasi dengan kecepatan 600 rpm selama 10 menit pada suhu ruangan sebanyak 2 kali untuk menghilangkan kontaminan platelet, kemudian diresuspensi dalam HBSS 2500 µl dan dilakukan *pipeting*. Suspensi sel-sel mononuklear kemudian dilapiskan pada *plastic microplate (24 wells)* yang di bagian dasarnya telah diberi *cover slip* (tiap *well* 100 µl), kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Medium inkubasi mengandung limfosit dibuang dan monosit dibilas 3 kali dengan HBSS. Pelet monosit diresuspensi dalam RPMI 1 cc per *well*. Pada tiap *well* kemudian ditambahkan penstrep (5 µl dan fungison 20 µl), dilakukan *pipeting* medium secara berhati-hati. Monosit siap untuk uji fagositosis.

Inkubasi ekstrak daun binahong. Suspensi isolat monosit dibagi menjadi 4 kelompok yang masing-masing terdiri dari 6 *well* yaitu:

1. kelompok kontrol (K),
2. kelompok yang diinkubasi ekstrak daun binahong 25% (EDB 25%),
3. kelompok yang diinkubasi ekstrak daun binahong 50% (EDB 50%),
4. kelompok yang diinkubasi ekstrak daun binahong 100% (EDB 100%).

Pada setiap *well* ditambahkan bahan sesuai pengelompokkannya sebanyak 1 cc. Inkubasi dilakukan dalam *incubator shaker* dengan 5% CO₂ pada 37°C selama 18 jam.

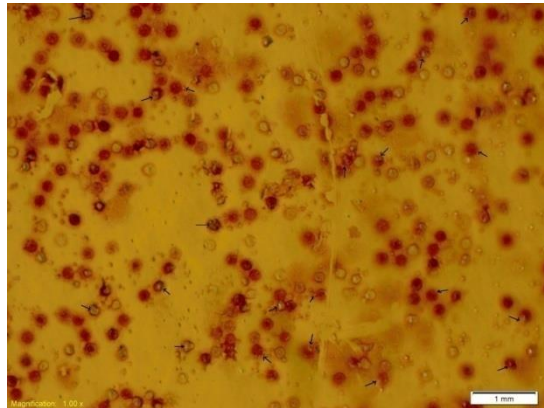
Pemaparan *latex beads*. Isolat monosit dipapar dengan *latex beads* sebanyak 100 µl per *well* dan diinkubasi dalam *incubator shaker* dengan 5% CO₂ pada 37°C selama 1 jam.

Pengamatan dan parameter aktivitas fagositosis. Isolat monosit yang telah dipapar *latex beads* dicuci 2 kali menggunakan HBSS. Fiksasi dengan *methanol absolute* selama 1 menit, setelah itu dicuci dengan aquades. *Cover slip* diambil dari dalam *well*, dilakukan *mounting* pada *slide* dan diberi tanda sesuai dengan kelompoknya. Pengecatan dengan *Giemsa dye* selama 2 menit, dicuci dengan aquades kemudian diangin-anginkan. Setelah kering tutup dengan *object glass*. Pengamatan aktivitas fagositosis di bawah mikroskop cahaya pembesaran 400 x yang ditunjukkan oleh adanya aktivitas monosit memfagosit partikel *latex beads*. Parameter aktivitas fagositosis dinyatakan dalam rata-rata jumlah partikel *latex beads* yang difagosit per 100 monosit.

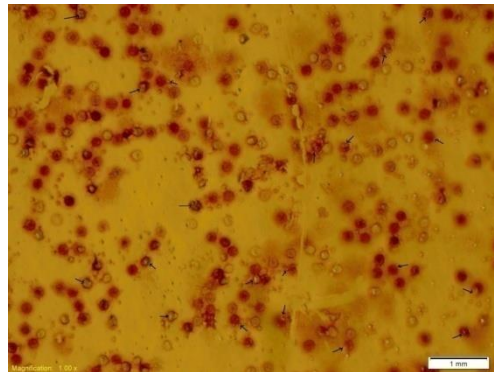
Analisis data. Untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh ekstrak daun binahong dari berbagai konsentrasi terhadap aktivitas fagositosis monosi digunakan uji Kruskal-Wallis yang dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

Hasil

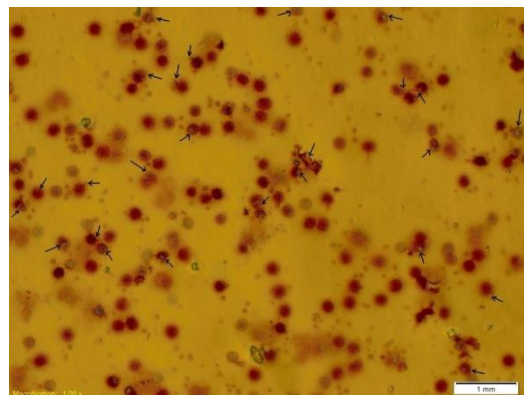
Hasil penelitian yang menunjukkan adanya aktivitas monositl memfagosit partikel *latex beads* secara mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 1, 2, 3, dan 4.



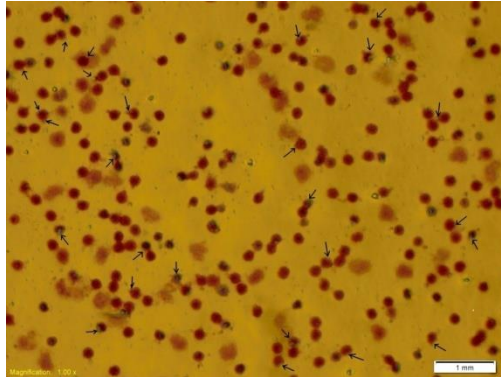
Gambar 1. Fagositosis monosit pada kelompok kontrol. Tampak partikel *latex beads* (putih bening) yang difagosit oleh monosit (tanda panah). Pengambilan gambar dilakukan dengan pembesaran 400x mikroskop cahaya.



Gambar 2. Fagositosis monosit pada kelompok EDB 25%. Tampak partikel *latex beads* (putih bening) yang difagosit oleh monosit (tanda panah). Pengambilan gambar dilakukan dengan pembesaran 400x mikroskop cahaya.



Gambar 3. Fagositosis monosit pada kelompok EDB 50%. Tampak partikel *latex beads* (putih bening) yang difagosit oleh monosit (tanda panah). Pengambilan gambar dilakukan dengan pembesaran 400x mikroskop cahaya.

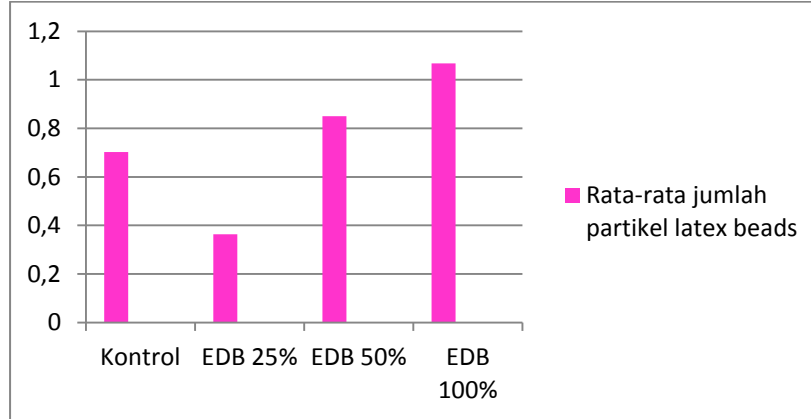


Gambar 4. Fagositosis monosit pada kelompok EDB 100%. Tampak partikel *latex beads* (putih bening) yang difagosit oleh monosit (tanda panah). Pengambilan gambar dilakukan dengan pembesaran 400x mikroskop cahaya.

Rata-rata jumlah partikel *latex beads* yang difagosit monosit dari setiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 5. Berdasarkan Tabel 1 dan Gambar 5 diketahui bahwa rata-rata jumlah partikel *latex beads* yang difagosit monosit terbesar pada kelompok yang dipapar EDB 100% dan terkecil pada kelompok yang dipapar EDB 25%.

Tabel 1. Rata-rata jumlah partikel *latex beads* yang difagosit monosit

Kelompok	Rata-rata jumlah partikel <i>latex beads</i>
Kontrol	0,703 ± 0,025
EDB 25%	0,363 ± 0,015
EDB 50%	0,850 ± 0,174
EDB 100%	1,067 ± 0,110



Gambar 5. Histogram rata-rata jumlah partikel *latex beads* yang difagosit monosit

Hasil uji Kruskal-Wallis didapatkan rata-rata jumlah partikel *latex beads* yang difagosit monosit pada masing-masing kelompok mempunyai perbedaan bermakna ($p=0,018$). Selanjutnya dilakukan uji Mann-Whitney untuk mengetahui kelompok yang berbeda bermakna dan didapatkan hasil rata-rata jumlah partikel *latex beads* antar kelompok berbeda bermakna kecuali antara kelompok kontrol dengan yang dipapar EDB 50% dan antara kelompok yang dipapar EDB 50% dengan yang dipapar EDB 100% (Tabel 2). Berdasarkan hasil tersebut dapat diartikan bahwa rata-rata jumlah partikel *latex beads* kelompok kontrol lebih besar daripada kelompok yang dipapar EDB 25% tetapi lebih kecil daripada yang dipapar EDB 100%. Rata-rata jumlah partikel *latex bead* pada kelompok yang dipapar EDB 100% lebih besar daripada kelompok kontrol, kelompok yang dipapar EDB 25% dan yang dipapar EDB 50%. Sedangkan antara kelompok kontrol dengan yang dipapar EDB 50% dan antara kelompok yang dipapar EDB 50% dengan yang dipapar EDB 100% dapat dikatakan mempunyai rata-rata jumlah partikel *latex beads* yang sama.

Tabel 2. Hasil uji Mann-Whitney

	Kontrol	EDB 25%	EDB 50%	EDB 100%
Kontrol	-	0,050*	0,513	0,050*
EDB 25%	-	-	0,050*	0,050*
EDB 50%	-	-	-	0,127
EDB 100%	-	-	-	-

Keterangan: * ada perbedaan bermakna

Pembahasan

Penelitian ini menggunakan partikel *latex beads* sebagai target fagositosis monosit setelah dipapar ekstrak daun binahong (EDB). Bahan ini adalah partikel polimer yang terlarut dalam *latex* dan terbentuk dalam polimer *polystyrene*. *Latex beads* merupakan bahan kontras sehingga pada pemeriksaan dengan mikroskopis cahaya akan terlihat partikel *latex beads* yang difagositosis monosit.

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata jumlah partikel *latex beads* kelompok kontrol lebih besar daripada kelompok yang dipapar EDB 25%. Hal ini disebabkan kelompok kontrol tergolong kontrol positif karena ditambahkan antibiotik penstrep (penicillin streptomycin) 5 µl dan fungison 20 µl sebelum uji fagositosis. Tujuan awal pemberian antibiotik penstrep sebenarnya adalah untuk menghindari kontaminasi bakteri dan jamur, tetapi diketahui bahwa antibiotik ini juga memiliki kemampuan untuk meningkatkan aktivitas fagositosis monosit.⁴

Sedangkan rata-rata jumlah partikel *latex bead* pada kelompok yang dipapar EDB 100% lebih besar daripada kelompok kontrol, kelompok yang dipapar EDB 25% dan yang dipapar EDB 50%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong mempunyai pengaruh terhadap aktivitas fagositosis monosit. Adanya aktivitas fagositosis monosit tersebut kemungkinan dikarenakan kandungan senyawa aktif dari ekstrak daun binahong seperti flavonoid dan alkaloid. Golongan senyawa tersebut sudah diketahui bermanfaat sebagai imunostimulan. Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa ini memiliki kemampuan memperbaiki respon *host* yang mengaktifasi monosit yang berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing meskipun mekanisme aktivasinya belum dapat dijelaskan. Flavonoid dan alkaloid mampu meningkatkan proliferasi dari sel B dan sel T limfosit, pelepasan sitokin spesifik seperti TNF- α , IFN- γ dan IL-4. Selain itu juga berpotensi bekerja terhadap limfokin yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan memacu sel-sel fagosit termasuk monosit untuk melakukan respon fagositosis.^{5, 6, 7, 8} Senyawa fenolik juga mempunyai khasiat antioksidan yaitu mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas. Radikal bebas merupakan oksigen reaktif yang akan menyerang membran sel. Senyawa antioksidan akan menjaga dan berfungsinya membran

lipid, protein sel, dan asam nukleat; serta mampu mempertahankan keutuhan bentuk sel terhadap serangan dari antigen. Monosit yang dipapar senyawa antioksidan ekstrak daun binahong dapat mempertahankan bentuk selnya sehingga monosit akan secara aktif melakukan fungsinya sebagai sel fagosit.^{3,9}

Ekstrak daun binahong konsentrasi 50% dan 100% mempunyai aktivitas fagositosis yang sama karena partikel *latex bead* yang difagosit monosit setelah dipapar kedua konsentrasi ekstrak daun binahong tersebut mempunyai jumlah yang sama. Meskipun pada konsentrasi yang lebih tinggi terkandung senyawa aktif yang juga lebih tinggi, tetapi kemungkinan konsentrasi yang tinggi justru menyebabkan rusaknya keutuhan membran sel sehingga monosit pecah dan tidak berfungsi.^{3,9}

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa: ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis) dapat meningkatkan aktivitas fagositosis monosit dan aktivitas fagositosis tertinggi adalah kelompok ekstrak daun binahong konsentrasi 50% dan 100%.

Daftar Pustaka

1. Baratawidjaya KG, Rengganis I. 2014. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
2. Hoffbrand AV, Pettit JE. 1996. *Kapita Selekta Haematologi*. Jakarta: EGC.
3. Selawa W, Runtuwene MRJ, Citraningtyas G. Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong [*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.]. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. 2013; 2 (1): 18-23.
4. Butler T dkk. Phagocytosis of *Borrelia recurrentis* by blood polymorphonuclear leukocytes is enhanced by antibiotic treatment. *Infection and Immunity*. 1980; 28 (3): 1009-1013.
5. Nugroho, YA. 2012. Efek pemberian kombinasi buah sirih (*Piper betle* L.) fruit, daun miyana (*Plectranthus scutellarioides* (L) R. BR.) leaf, madu, dan kuning telur terhadap peningkatan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag. *Media Litbang Kesehatan*. 2012; 22 (1): 1-5.
6. Marusin S dan Chairul. Efek ekstrak air dan alkohol pada siwak (*Salvadora persica* L.) terhadap peningkatan aktifitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag. *Media Litbang Kesehatan*. 2012; 22 (1): 38-44.

7. Kusmardi, Kumala S, Triana EE. Efek imunomodulator ekstrak daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) terhadap aktifitas dan kapasitas fagositosis makrofag. Makara Kesehatan. 2007; 11 (2): 50-53.
8. Wardhani L dan Sulistyani N. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap *Shigella flexneri* beserta profil kromatografi lapis tipis. Jurnal Ilmiah Kefarmasian. 2012; 2 (1): 1-16.
9. Ekaviantiwi TA, Fachriyah E, dan Kusrini. Identifikasi asam fenolat dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis) dan uji aktivitas antioksidan. Chem Info. 2013; 1 (1): 283-293.