

**AKTIVITAS IMUNOMODULATOR KACANG KORO KRATOK
(*Phaseolus lunatus L.*) PUTIH TERHADAP
RESPON IMUN NON SPESIFIK PADA MENCIT JANTAN**

***IMUNOMODULATOR ACTIVITY of PEANUT BEANS
(Phaseolus lunatus L.) WHITE ABOUT
NON-SPESIFIC IMMUNE RESPONSE IN MALE MICE***

Nurul Firdausiyah, Lailiyatus Syafah

Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang, 2017

ABSTRAK

Immunomodulator merupakan suatu senyawa tertentu yang dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh. Kacang Koro Kratok diduga memiliki senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan saponin. Senyawa tersebut mempunyai aktivitas sebagai immunomodulator. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas immunomodulator kacang kratok terhadap respon imun non spesifik pada mencit jantan putih dengan menggunakan metode *Carbon Clearance*. Pada penelitian ini mencit dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dengan variasi dosis 32,5 mg, 65 mg, dan 130 mg berat badan mencit. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan kacang kratok dengan variasi dosis memiliki nilai indeks fagositosis masing-masing perlakuan >1 dan nilai indeks fagositosis yang tertinggi terdapat pada dosis 130mg/20g bb mencit yaitu sebesar 1,436. Kesimpulan dari penelitian ini kacang kratok memiliki aktivitas immunomodulator terhadap respon imun non spesifik pada mencit jantan dengan nilai indeks fagositosis 1,436. Perlu dilakukan uji aktivitas dengan menggunakan metode transformasi limfosit T untuk mengetahui aktivitas immunomodulator kacang kratok pada sistem imun spesifik.

Kata Kunci: Aktivitas Immunomodulator, Kacang kratok , *Carbon Clearance*.

ABSTRACT

Immunomodulator is a specific compound can increase the body's defense mechanism. Peanut kratok alleged to have alkaloid compounds, flavonoids, triterpenoids, and saponins. The compound has activity as an immunomodulator. The purpose of this research is to know the immunomodulator activity of peanut kratok about non-specific immune response in white male mice using carbon clearance method. In this research mice were divided into 4 groups treatment in variation dose 32,5 mg, 65 mg, and 130 mg of body weight mouse. Based on research result showed peanut kratok has value of index phagocytosis of each treatment >1 and highest index value of phagocytosis found at dose 130mg / 20gbb of mice that is equal to 1,436. The conclusion of this research peanut kratok have immunomodulatory against non-specific immune response in male mice with the value of index phagocytic 1.436. Activity test is needed by using transformation method of lymphocyte T to know the immunomodulatory activity of kratok bean on specific immune system.

Keywords: Immunomodulator Activity, Kratok Bean , Carbon Clearance.

PENDAHULUAN

Seiring berjalannya waktu dan berkembangnya zaman, banyak terjadi perubahan gaya hidup pada masyarakat serta pekerjaan yang menuntut mobilitas tinggi. Mobilitas yang tinggi disertai dengan aktivitas berat yang dapat menyebabkan seseorang mengalami kelelahan, stress akibat pekerjaan dan berdampak buruk pada kesehatan. Sehingga mengakibatkan tubuh mudah terserang penyakit akibat virus, bakteri, dan mikroorganisme lain. Hal tersebut merupakan suatu tanda terjadinya penurunan sistem imun pada tubuh.

Sistem imun yang lemah akan memudahkan serangan dari berbagai patogen, termasuk virus, bakteri, jamur, dan protozoa (Wahyu *et al.*, 2008) serta tubuh yang mengalami defisiensi vitamin atau mineral sangat rentan terhadap berbagai macam kuman patogen (Hadkinson *et al.*, 2007). Pada saat sistem imun lemah, maka tubuh mudah terjangkit penyakit, ketika itu respon imun non spesifik tidak peka terhadap setiap bakteri atau antigen yang masuk dalam tubuh.

Berdasarkan kebiasaan masyarakat Situbondo, kacang koro kratok (*Phaseolus lunatus* L.) hanya dikonsumsi tanpa mengetahui manfaat sebenarnya. Kacang memiliki kandungan protein yang tinggi, asam lemak omega 3 yang merupakan ciri umum makanan untuk peningkatan sistem kekebalan tubuh.

Berdasarkan penelitian sebelumnya kacang – kacangan mengandung zinc (Rina, 2005) yang dapat meningkatkan produksi T-Cell untuk melawan infeksi. Menurut biosaintifika tahun 2010 bahwa Zink (Zn) dapat dijadikan sebagai imunostimulan. Serta terdapat penelitian ilmiah lain yang menunjang penelitian ini diantaranya tanaman yang memiliki sub kelas *Rosidae* yang sama dengan kacang kratok dapat digunakan sebagai imunomodulator yaitu meniran (*Phyllanthus niruri* L.) (Aldi dkk, 2014) , dan terdapat pula penelitian dari marga yang sama (*Phaseolus*) mengenai kajian minuman sinbiotik Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus*) secara in vitro terhadap sistem imunitas tubuh. Terdapat penelitian yang menjelaskan senyawa yang mempunyai efek imunomodulasi yaitu flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, glikosidan dan komponen fenolik (Rinki, 2011).

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan skrining fitokimia terlebih dahulu untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada kacang

koro kratok kemudian dilakukannya penelitian mengenai aktivitas immunomodulator kacang koro kratok putih.

METODE PENELITIAN

Penelitian aktivitas imunomodulator kacang koro kratok (*Phaseolus lunatus* L.) putih terhadap respon imun non spesifik pada mencit jantan dengan menggunakan metode *Carbone Clearance*.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah oven, blender (philips), timbangan analitik, glassware, cawan penguap, corong buchner, desikator, spektrofotometer.

Bahan yang digunakan adalah Kacang koro kratok putih, FeCl₃ 1%, NaCl 0,9%, Asam asetat 1%, NaEDTA (teknis), tween 80 (Farmasetik), Aquadest, tinta cina.

Penyiapan Sampel

Pembuatan sampel uji kacang koro kratok dilakukan dengan cara pencucian, kemudian perebusan dengan perbandingan kacang kratok dan air 1:18. Direbus selama 15 menit. Kemudian dijemur selama 24 jam lalu dikeringkan menggunakan oven 60°C selama 1x24 jam. Selanjutnya proses penggilingan dan pengayakan menggunakan mesh 100.

Identifikasi Senyawa Kacang Koro Kratok

Identifikasi secara kualitatif kandungan HCN dengan menggunakan uji reaksi warna asam tartrat dan Na₂CO₃. Kemudian dilakukan pengujian skrining fitoimia dengan uji reaksi warna dan pengendapan metode tabung.

Uji Aktivitas Immunomodulator

Mencit diaklematisasi selama satu minggu, kemudian diberikan sampel kacang koro kratok selama 6 hari berturut-turut dengan dosis yang telah ditentukan. Mencit dikelompokkan menjadi 4 perlakuan, masing-masing terdiri dari 3 ekor mencit.

Tabel 1. Pengelompokan Perlakuan Hewan Uji

Perlakuan	Keterangan
P ₀	diberi tween 80 (1%)
P ₁	diberi sampel 32,5 mg/ 20 g bb
P ₂	diberi sampel 65mg/ 20 g bb
P ₃	diberi sampel 130 mg/ 20 g bb

Kemudian dilanjutkan dengan penyiapan suspensi karbon koloid dengan melarutkan 1,6 gram tinta cina pada 25 ml asam asetat 1% dalam larutan NaCl 0,9% sebagai antigen pada mencit. Lalu dilakukan penetapan kadar karbon dengan mendispersikan 100 mg tinta cina yang telah dikeringkan dalam 100 ml asam asetat 1% sehingga konsentrasi 1mg/ml dan dibuat larutan dengan konsentrasi 40, 60, 80, 100 dan 120 µg/ml. Masing-masing kadar tersebut dipipet 4ml ditambahkan darah mencit sebanyak 25µL homogenkan, ukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 650 nm dengan darah mencit dan asam asetat sebagai blanko.

Selanjutnya ujung ekor mencit dipotong dan darah ditampung pada plat tetes yang ditambahkan NaEDTA hingga homogen. Darah diambil 25µL dan dilisis dengan 4 ml asam asetat 1%, contoh darah ini digunakan sebagai blanko (menit 0), kemudian

0,1ml/10g BB suspensi karbon disuntikkan secara intravena pada bagian ekor, darah mencit diambil 25 µL pada menit ke-15 setelah penyuntikan. Masing-masing darah dilisis dengan 4 ml asam asetat 1% dan diukur serapannya pada panjang gelombang 650 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Indeks Fagositosis

Berdasarkan nilai absorbansi kemudian dihitung Konstanta Fagositosis (KF) dan Indeks Fagositosis (IF) dengan menggunakan rumus:

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

Keterangan :

KF = Konstanta fagositosis

A = Absorban pada waktu ke-0

t = Waktu (3, 6, 9, 12 dan 15)

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

$$(IF) = \frac{\text{Konstanta fagositosis mencit}}{Z}$$

Keterangan:

IF = Indeks fagositosis

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

Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan metode analisis variansi ANOVA satu arah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman kacang koro kratok memiliki spesies *Phaseolus lunatus* L. berdasarkan Material Medika Batu. Pembuatan sampel kacang koro

kratok dari 250 g diperoleh 200 g sampel kering. Dilakukan perebusan untuk memecah HCN dalam kacang, kemudian dijemur dan dioven dalam suhu 60°C untuk mengurangi kadar air dalam kacang.

Hasil pengujian kualitatif kadar HCN kacang koro kratok dinyatakan tidak mengandung HCN yang ditandai dengan tidak adanya endapan merah pada indikator. Hasil pengujian kualitatif skrining fitokimia dapat diketahui pada tabel 2.

Tabel 2. Skrining Fitokimia Kacang Kratok

No	Pemeriksaan (Metabolit Sekunder)	Pereaksi	Pustaka	Hasil Pengamatan	Keterangan
1.	Alkaloid	a.Dragendorff b.Mayer c.Bouchardat, d.Wagner	a.Endapan jingga b.Endapan putih/kuning c.endapan coklat d.endapan coklat	(+) (+) (+) (-)	Terdapat senyawa alkaloid
2.	Flavonoid	a.HCL dan Serbuk Mg, b.NaOH 10%, c.H ₂ SO ₄ (p).	a.warna kuning, merah/jingga b.kuning tua-kuning muda c.kuning tua – merah tua.	(+) (+) (+)	Terdapat senyawa flavonoid
3.	Saponin	Air panas	Terbentuk busa setinggi 1-10 cm	(+)	Terdapat senyawa saponin
4.	Tannin	FeCl 1%	Warna biru / hijau kehitaman.	(-)	Tidak terdapat tannin
5.	Triterpenoid	Kloroform, asam asetat anhidrat, dan H ₂ SO ₄ (p).	Terbentuk cincin kecoklatan pada perbatasan pelarut.	(+)	Terdapat senyawa triterpenoid

Berdasarkan tabel 2 diketahui bahwa kacang koro kratok memiliki kandungan alkaloid, flavonoid,

saponin, dan triterpenoid. Kandungan zat aktif yang bersifat imunomodulator

adalah alkaloid, flavonoid, saponin (Rinki, 2011).

Pengujian skrining fitokimia menggunakan uji reaksi warna dan pengendapan dengan metode tabung. Metode tabung digunakan karena sederhana, cepat, dapat dilakukan dengan peralatan minimal, selektif terhadap golongan senyawa yang dipelajari, semikualitatif dan dapat memberikan keterangan tambahan ada atau tidaknya senyawa tertentu.

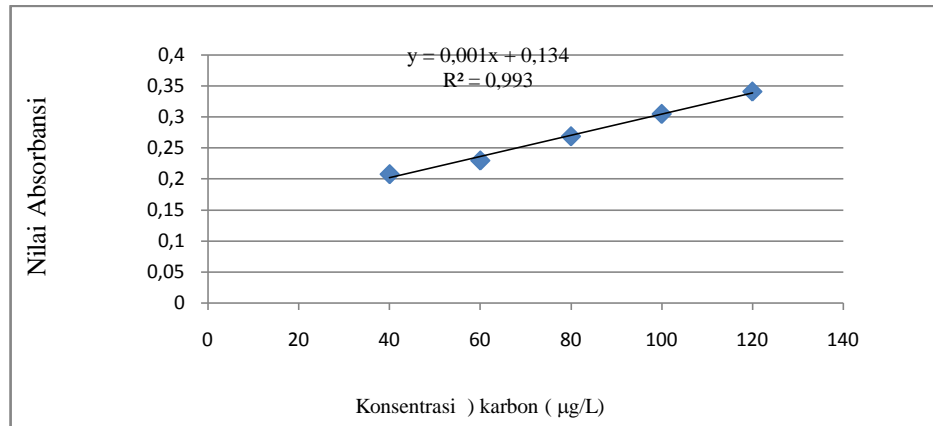
Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan. Hal ini karena sistem imun mencit jantan tidak dipengaruhi oleh hormon estrogen seperti halnya pada mencit betina (Baraawidjawa, 2009). Alasan lainnya karena mencit mempunyai fisiologis mirip manusia dan mudah untuk diperlakukan. Kemudian di aklimatisasi selama 7 hari agar beadaptasi dengan lingkungan percobaan.

Pengujian respon imun non spesifik dilakukan dengan metoda bersihan karbon yang merupakan pengujian kemampuan fagositosis dengan menggunakan karbon sebagai antigen. Karbon akan berkurang jumlahnya dalam darah seiring pertambahan waktu, karena adanya

peristiwa fagositosis oleh sel-sel leukosit terutama neutrofil, monosit, makrofag dan eosinofil (Baratawidjaya, 2009). Karbon yang digunakan adalah tinta cina yang telah dikeringkan (Faber Castell 6 Mbh & Co. D-90546). Hal ini karena ukuran partikelnya lebih kecil dan lebih stabil sehingga tidak menyebabkan penyumbatan pada pembuluh darah dan paru-paru.

Pada uji penetapan kadar, diketahui kadar karbon tinta cina yaitu 22,64%. Karbon ini dibuat dalam bentuk suspensi dengan penambahan tween 80 (1%) sebagai pembasah. Konsentrasi karbon yang digunakan adalah 6,4% dengan menggunakan NaCl 0,9% bertujuan agar kondisi sediaan suspensi karbon sama dengan kondisi tubuh mencit.

Nilai absorban diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 650 nm, setelah sebelumnya dibuat kurva kalibrasi untuk melihat hubungan linier antara konsentrasi karbon dalam darah dengan nilai absorbansi. Berikut adalah gambar 1. hasil kurva baku karbon.



Gambar 1. Kurva Baku Karbon

Berdasarkan gambar tersebut, menunjukkan bahwa adanya hubungan linier antara konsentrasi karbon dalam darah mencit dengan nilai absorbansi. Semakin tinggi konsentrasi karbon dalam darah maka akan semakin tinggi pula nilai absorbansi yang diperoleh.

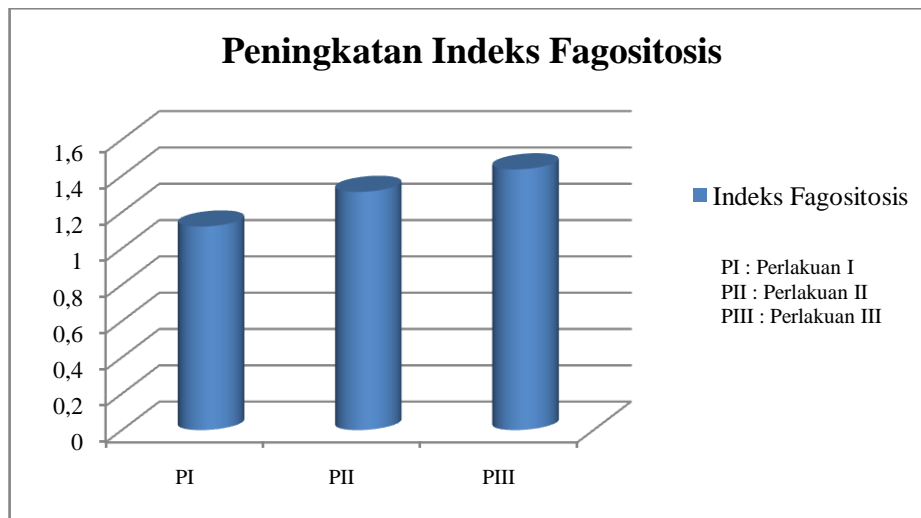
Data absorbansi digunakan untuk menghitung nilai konstanta fagositosis. Konstanta fagositosis merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk menentukan kecepatan fagositosis. Berikut adalah tabel pengukuran konstanta dan indeks fagositosis.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Konstanta dan Indeks Fagositosis

Hasil Pengukuran Indeks Fagositosis			
Perlakuan	Mencit	Konstanta Fagositosis (KF)	Indeks Fagosit (IF)
Kontrol Negatif	1	0,0565	0,992
	2	0,0574	1,008
	3	0,0568	0,998
	rata-rata	0,0569	0,999
Dosis 32,5 mg/20gbb	1	0,0577	1,014
	2	0,0650	1,142
	3	0,0688	1,209
	rata-rata		1,121 (imunostimulan)
Dosis 65 mg/20gbb	1	0,0747	1,312
	2	0,0760	1,335
	3	0,0734	1,289
	rata-rata		1,312 (imunostimulan)
Dosis 130 mg/20gbb	1	0,0761	1,337
	2	0,0801	1,407
	3	0,089	1,564
	rata-rata		1,436 (imunostimulan)

Berdasarkan tabel diatas Semakin besar harga konstanta fagositosis maka semakin tinggi kecepatan bersihan karbon yang berarti semakin cepat sel fagositik melakukan proses fagositosis. Hal ini

menunjukkan adanya pengaruh kacang koro kratok terhadap kecepatan eliminasi karbon dalam darah mencit. Berikut adalah gambar grafik Peningkatan Indeks Fagositosis.



Berdasarkan harga konstanta fagositosis diperoleh nilai indeks fagositosis yang digunakan sebagai parameter pengujian aktivitas imunomodulator. Nilai rata-rata indeks fagositosis menunjukkan aktivitas fagositosis sel-sel fagotik terhadap partikel karbon sebagai antigen akibat pengaruh pemberian kacang koro kratok. Apabila nilai rata-rata indeks fagositosis lebih besar dari satu ($IF > 1$) menunjukkan zat uji tersebut mempunyai kemampuan imunostimulan (Kresno, 2007).

Meningkatnya indeks fagositosis akibat kacang koro kratok yang mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan saponin, dimana mekanisme flavonoid meningkatkan aktivitas sel limfosit yang akan menghasilkan banyak $IFN-\gamma$ yang meningkatkan aktivitas makrofag sehingga kemampuan fagositosis juga meningkat.

Hasil perhitungan indeks fagositosis kemudian dianalisis menggunakan analisis variansi ANOVA satu arah. Dari perhitungan ANOVA diketahui bahwa nilai

signifikan $<0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa paling sedikit satu kelompok perlakuan yang memberikan perbedaan aktivitas imunomodulator kacang koro kratok terhadap respon imun non spesifik pada mencit jantan. Kemudian dilakukan uji lanjut LSD untuk mengetahui perbedaan yang nyata tiap kelompok perlakuan, sehingga dapat diketahui dosis yang memberikan aktivitas paling tinggi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil kesimpulan yang telah dilakukan dapat disimpulkan kacang koro kratok memiliki aktivitas imunomodulator terhadap respon imun non spesifik pada mencit jantan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Rasa terimakasih dipersembahkan kepada Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang yang telah memberikan kemudahan dalam sarana dan prasarana.

DAFTAR PUSTAKA

Aldi, Y., Rasyadi, Y., dan Handayani, D., 2014. Aktivitas Imunomodulator dari Ekstrak Etanol Meniran (*Phyllanthus*

niruri Linn.) terhadap Ayam Broiler. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis Vol. 01 (01) : 20-26* ISSN: 2407-7062.

Baratawidjaja K, Rengganis I. *Imunologi Dasar*, Edisi Kedelapan. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Indonesia; 2009.

Diniyah, N, Windrati WS, Maryanto. 2013. Pengembangan Teknologi Pangan Berbasis Koro-koroan sebagai Pangan Alternatif Pensubstitusi Kedelai. *Prosiding Semnas Pengembangan Sumber Daya Lokal untuk Mendorong Ketahanan Pangan dan Ekonomi*, UPN Veteran, Jawa Timur

Ghaemi, A., Soleimanjahi, H., Razeghi, S., Gorji, A., Tabaraei, A., *et al.*, 2012, Genistein induces a protective immunomodulatory effect in a mouse model of cervical cancer, *Iran J Immunol*, **9(2)**:119-27.

Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: Penerbit ITB.

Hodkinson C, Kelly M & Alexander H.2007. Effect of Zinc Supplementation on the Immune Status of Healthy Older Individuals Aged 55-70 Years: The ZENITH Study. *The Journals of Gerontology: Series A : Biological sciences and medical sciences* **11(2)**:598-609.

Kresno S B. *Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2010.

Riana,D.N., Zusfahair, Dwi Kartika.2016.*Identification Of Secondary Metabolites Compounds And Antibacterial Activities On The Extract Of Soursop Leaf*.JurusanKimiaFMIPAUniversitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia.

Wahyu W, Ashana S & Raymond J. 2008.*Efek Toksik Logam Pencegahan dan Penanggulangan Pencemaran*. Yogyakarta: Penerbit ANDI.

ARTIKEL ILMIAH

AKTIVITAS IMUNOMODULATOR KACANG KORO KRATOK
(*Phaseolus lunatus* L.) PUTIH TERHADAP
RESPON IMUN NON SPESIFIK PADA MENCIT JANTAN

NURUL FIRDAUSIYAH
NIM 14.142

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan



Pembimbing,
MALANG

Lailiyatus syafah, S.Farm.Apt.