

**TELAAH AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG MOJO
(*Aegle marmelos* L.) TERHADAP AKTIVITAS FAGOSITOSIS SEL
MAKROFAG DAN PROLIFERASI SEL LIMFOSIT
MENCIT SECARA *IN VITRO***



Oleh:

**Ahmad Purnawarman Faisal
SBF041310042**

**PROGRAM PASCASARJANA ILMU FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2014**

**TELAAH AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG MOJO
(*Aegle marmelos* L.) TERHADAP AKTIVITAS FAGOSITOSIS SEL
MAKROFAG DAN PROLIFERASI SEL LIMFOSIT
MENCIT SECARA *IN VITRO***

TESIS

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Strata-2
Program Pascasarjana Ilmu Farmasi
Minat Ilmu Farmasi & Pengembangan Obat*

Oleh:

**Ahmad Purnawarman Faisal
SBF041310042**

**PROGRAM PASCASARJANA ILMU FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2014**

PENGESAHAN TESIS

Berjudul

**TELAAH AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG MOJO
(*Aegle marmelos* L.) TERHADAP AKTIVITAS FAGOSITOSIS SEL
MAKROFAG DAN PROLIFERASI SEL LIMFOSIT
MENCIT SECARA *IN VITRO***

Oleh:

Ahmad Purnawarman Faisal
SBF041310042

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Tesis
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal : 19 September 2014

Mengetahui:

Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan

Pembimbing,

Prof. Dr. Ediati Sasmito., SE., Apt.



Prof. Dr. R.A Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt.

Penguji :

1. Prof. Dr. R.A Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.
2. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt.
3. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt.
4. Prof. Dr. Ediati Sasmito., SE., Apt

HALAMAN PERSEMBAHAN

Who loses with a smile, she is the winner

Non Mollare Mai

Forza Inter

Karya ini kupersembahkan untuk :

**Allah SWT atas kemudahan, keberuntungan, dan kelancaran yang telah
diberikan kepadaku,**

Kedua orang tuaku,

Saudaraku dan Keluarga Besar.

**My Love, All my friends, rekan-rekan pascasarjana,
serta almamaterku..**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar magister di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum apabila tesis ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/tesis orang lain.

Surakarta, September 2014

Ahmad Purnawarman Faisal

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas semua limpahan Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian yang berjudul **“TELAAH AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG MOJO (*Aegle marmelos* L.) TERHADAP AKTIVITAS FAGOSITOSIS SEL MAKROFAG DAN PROLIFERASI SEL LIMFOSIT MENCIT SECARA *IN VITRO*”** guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat strata-2 dalam Program Pascasarjana Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Dalam menyelesaikan proposal Tesis ini penulis tidak lepas dari segala bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Winarso Suryolegowo, SH., M.Pd selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Gunawan Pamudji, M.Si., Apt., selaku Ketua Program Studi Pascasarjana Ilmu Farmasi Universitas Setia Budi, sekaligus pembimbing pendamping yang telah memberikan nasehat dan bimbingan kepada penulis.
4. Prof. Dr. Ediati Sasmito, Apt., selaku pembimbing utama yang telah memberikan petunjuk dan bimbingannya kepada penulis.
5. Ayahanda Drs. H. M. Faisal Nuhung, M.Pd., dan Ibunda Hj. Hasnah Saleh, BA. yang tidak pernah lelah memberikan semangat, perhatian, kasih sayang, doa, dan materil.
6. Saudara Kandungku, Ahmad Mulawarman Faisal, S.Sos., Ahmad Adityawarman Faisal, S.Ip., Ahmad Mandarwarman Faisal, Dian Nauwala Putri, dan Kakak Ipar Nur Adilah, A.Md., serta si kecil Muhammad Alif Ramadhan.
7. Meirinda Tika Kismawati, S.Farm. Apt., yang tak henti-hentinya memberikan semangat kepada penulis.

8. Tomkost (Noor Hadi Pratama, S.Farm., Apt. | Yogi Bhakti Marhenta, S.Farm., Apt. | Raya Kuntho Suganda, S.Farm., Apt. | Sigit Purnomo, ST. | Angga Surya Prayogi | Sidik Nurbianto, S.Farm. | Hery Purnomo, S.Farm., Apt. | Linda Widyaningsih, S.Farm., Apt. | Mustofa Nurwardani, S.Farm., Apt. | Rendy Pratama, S.Farm. | Charliandri, S.Farm. | Prayoga Fery, S.Farm. | Zainal Aby., S.Pd), terima kasih atas semua persahabatan yang selama ini telah kalian beri.
9. Rekan-rekan satu angkatan Profesi Apoteker Angkatan 25 dan Magister Sains Angkatan 4 dan Manajemen Farmasi Angkatan 10.
10. Ikatan Alumni Farmasi Universitas Mulawarman Samarinda, Kalimantan Timur.
11. Semua Pihak yang telah membantu sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan proposal tesis ini banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharap segala saran dan kritik yang bersifat membangun. Penulis berharap semoga apa yang telah penulis kemukakan akan berguna baik bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya.

Surakarta, September 2014

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN SAMPUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	3
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Keaslian Penelitian	3
E. Kegunaan Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Mojo	5
1. Taksonomi	5
2. Deskripsi	5
3. Kandungan Mojo	7
4. Manfaat Mojo	8
B. Sel Makrofag	9
1. Pengertian Makrofag	9
2. Fungsi	11
3. Proses Fagositosis	13
C. Sel Limfosit	16

D. Penyarian	17
1. Pelarut	18
2. Maserasi	20
3. Fraksinasi	22
4. Kromatografi Lapis Tipis	23
5. Kromatografi Cair Vakum	24
6. Liquid chromatography-mass spectrometry (LCMS)	25
7. Gas chromatography-mass spectrometry (GCMS)	26
E. Uraian Metabolit Sekunder	32
1. Alkaloid	32
2. Kumarin	33
3. Terpenoid	34
4. Saponin	35
5. Tanin	36
6. Flavonoid	37
F. Landasan Teori	39
G. Hipotesis	40
BAB III. METODE PENELITIAN	42
A. Rancangan Penelitian	42
B. Subjek dan Lokasi Penelitian	42
C. Populasi dan Sampel	42
D. Metode Pengumpulan Data	43
E. Variabel Penelitian	43
1. Identifikasi Variabel Utama	43
2. Klasifikasi Variabel Utama	43
3. Definisi Operasional Variabel Utama	43
F. Paradigma Penelitian	45
G. Bahan dan Alat	46
1. Bahan	46
2. Alat	46

H. Jalannya Penelitian	46
1. Determinasi Tanaman	46
2. Persiapan Bahan	47
3. Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Mojo	47
4. Fraksinasi	48
5. Penyiapan Suspensi Bahan Uji	49
6. Isolasi Sel Makrofag dan Pengukuran Aktifitas Sel Makrofag	50
7. Isolasi Sel Limfosit dan Uji Proliferasi Sel Limfosit	51
8. Identifikasi Senyawa secara KLT	52
9. Identifikasi Senyawa dengan LCMS dan GCMS	53
9. Analisis Data	53
I. Alur Penelitian	54
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	55
A. Identifikasi Tanaman	55
B. Ekstraksi Kulit Batang Mojo	55
C. Fraksinasi Kulit Batang Mojo	56
D. Uji Aktivitas Imunostimulator Kulit Batang Mojo	57
F. Identifikasi Kandungan Kimia	70
G. Pembahasan	81
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	86
A. Kesimpulan	86
B. Saran	86
BAB VI. RINGKASAN	87
DAFTAR PUSTAKA	89
LAMPIRAN	94

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Aktivitas komponen senyawa kimia dari ekstrak metanol <i>Aegle marmelos</i> L. (Dr.Duke's: Phytochemical and Ethnobotanical Databases)	30
Tabel 2.	Aktivitas dari ekstrak kulit batang mojo terhadap fagostosis sel makrofag	58
Tabel 3.	Jumlah lateks yang difagositosis oleh 100 makrofag	62
Tabel 4.	Uji normalitas data indeks fagositosis makrofag	63
Tabel 5.	Hasil Uji Tukey indeks fagositosis makrofag	63
Tabel 6.	Optical Density sel limfosit dari masing-masing kelompok perlakuan	68
Tabel 7.	Hasil uji LSD pada proliferasi sel limfosit dengan taraf kepercayaan 95%	69
Tabel 8.	Data kromatogram KLT identifikasi alkaloid pada fase gerak toluen : etil asetat : dietilamin (7: 2 : 1), silika gel F254 sebagai fase diam dan dragendorf sebagai penampak bercak	70
Tabel 9.	Data kromatogram KLT identifikasi flavonoid pada fase gerak etil asetat : asam formiat : asam asetat glasial : aid (100 : 11 : 11 : 27), silika gel F254 sebagai fase diam dan sitroborat sebagai penampak bercak	72
Tabel 10.	Data kromatogram KLT identifikasi saponin pada fase gerak kloroform : metanol : air (64 : 50 : 10), silika gel F254 sebagai fase diam dan Liberman Burchard sebagai penampak bercak	74
Tabel 11.	Data kromatogram KLT identifikasi tanin pada fase gerak etil asetat : asam formiat : toluene : air (6 : 1,5 : 3 : 0,5), silika gel F254 sebagai fase diam dan FeCl ₃ sebagai penampak bercak	76

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Tumbuhan Mojo (Sumber pribadi)	6
Gambar 2.	Kulit Batang Mojo (Badan POM RI, 2008)	6
Gambar 3.	Sel Makrofag (Richard, 2000)	15
Gambar 4.	Struktur kimia alkaloid (aeglin)	33
Gambar 5.	Struktur kimia senyawa kumarin (marmesin)	34
Gambar 6.	Struktur Kimia Terpenoid (limonene)	35
Gambar 7.	Struktur kimia saponin	36
Gambar 8.	Struktur kimia tanin (quinoline)	37
Gambar 9.	Stuktur kimia flavonoid (rutin)	38
Gambar 10.	Skema penelitian uji	45
Gambar 11.	Skema penyiapan sampel uji	47
Gambar 12.	Skema fraksinasi ekstrak	48
Gambar 13.	Skema kerja penelitian	54
Gambar 14.	Kultur sel makrofag tanpa pemberian perlakuan dan kultur sel makrofag dengan pemberian perlakuan	61
Gambar 15.	Grafik jumlah lateks yang difagositosis oleh 100 makrofag	62
Gambar 16.	Reduksi MTT oleh enzim mitokondrial reduktase	66
Gambar 17.	Sel limfosit yang telah ditambah dengan reagen MTT tanpa pemberian perlakuan dan sel limfosit dengan pemberian perlakuan	66
Gambar 18.	Grafik proliferasi sel limfosit	68
Gambar 19.	Identifikasi alkaloid pada fase gerak toluen : etil asetat : dietilamin (7: 2 : 1)	71
Gambar 20.	Identifikasi flavonoid pada fase gerak etil asetat : asam formiat : asam asetat glasial : air (100 : 11 : 11 : 27)	73
Gambar 21.	Identifikasi saponin pada fase gerak kloroform : metanol : air (64 : 50 : 10)	75
Gambar 22.	Identifikasi tanin pada fase gerak etil asetat : asam formiat : toluene : air (6 : 1,5 : 3 : 0,5)	76

Gambar 23. Spektra LC isolat dari fraksi	77
Gambar 24. Spektra MS isolat dari fraksi dengan LCMS	78
Gambar 25. Aegeline	78
Gambar 26. Spektra MS isolat dari fraksi dengan GCMS	79

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I. Surat Identifikasi Tanaman	95
Lampiran II. Perhitungan Ekstrak, Rendemen, dan Suspensi Uji	96
Lampiran III. Gambar dan Tahap-tahap Penelitian	99
Lampiran IV. Gambar Hasil Pengujian Fagositosis Sel Makrofag dan Proliferasi Sel Limfosit	104
Lampiran V. Optical Density Sel Limfosit dibaca dengan <i>Microplate</i> <i>Reader</i>	107
Lampiran VI. Analisis Stastistik	108
Lampiran VII. Analisis LCMS Fraksi kulit batang mojo	121
Lampiran VIII. Analisis GCMS Fraksi kulit batang mojo	126

INTISARI

AHMAD, P.,F., 2014. TELAAH AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG MOJO (*AEGLE MARMELLOS L.*) TERHADAP AKTIVITAS FAGOSITOSIS SEL MAKROFAG DAN PROLIFERASI SEL LIMFOSIT MENCIT SECARA *IN VITRO*, TESIS, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Kulit Batang Mojo (*Aegle marmelos L.*) mengandung banyak senyawa kimia yang telah banyak diteliti dan mempunyai banyak aktivitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa aktif dari *Aegle marmelos L.* yang mempunyai aktivitas imunomodulator yang dapat meningkatkan fagositosis sel makrofag dan proliferasi sel limfosit.

Ekstraksi kulit batang mojo dilakukan dengan maserasi. Kemudian dilakukan fraksinasi dengan Kromatografi Cair Vakum, selanjutnya diidentifikasi senyawa yang terkandung dengan KLT, kemudian fraksi yang paling baik dilanjutkan identifikasi senyawa dengan menggunakan LCMS. Parameter aktivitas imunostimulator adalah fagositosis makrofag dan proliferasi limfosit, sediaan dibuat dalam beberapa konsentrasi ekstrak uji.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi yang paling aktif dalam aktivitas fagositosis makrofag adalah fraksi pada 750 ppm. Sedangkan aktivitas proliferasi limfosit ditunjukkan oleh konsentrasi 750 ppm. Hasil analisis fitokimia dari kulit batang mojo menunjukkan adanya kandungan flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Senyawa yang terkandung dalam fraksi adalah *aegeline*.

Kata Kunci : Mojo, *Aegle marmelos L.*, imunostimulator

ABSTRACT

AHMAD, P.,F., 2014. ACTIVITIES STUDY OF MOJO (*AEGLE MARMELLOS* L.) BARK ETHANOL EXTRACT AGAINST MACROPHAGE PHAGOCYTTIC AND LYMPHOCYTES PROLIFERATION BY IN-VITRO METHOD, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Mojo (*Aegle marmelos* L.) contain many chemical compounds that have been extensively researched and has a lot of activity. The aims of the experiment were to find out whether mojo bark extract had immunomodulatory activity that can enhance macrophage phagocytosis and lymphocyte proliferation.

Mojo bark extract was made by maceration method with ethanol 96% solvent. Then do the fractionated by Vacuum Liquid Chromatography, later identified compounds contained by TLC, then the fraction of the most well followed the identification of compounds by using LCMS. The immunostimulatory activity parameter were macrophage phagocytosis and lymphocyte proliferation. The extract preparation test were made in several variation concentration.

Results of the studies showed that the highest phagocytic activity macrophages of the fraction is 750 ppm concentration. The lymphocytes proliferation activities is 750 ppm concentration. The results of phytochemical analysis of mojo bark contains flavonoids, alkaloids, tannins, and saponins. The compound that contained in the fraction (the active fraction) supposed was *aegeline*.

Keywords : Mojo, *Aegle marmelos* L., immunomodulatory.

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Sudah sejak zaman dahulu masyarakat Indonesia mengenal dan memakai tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam menanggulangi masalah kesehatan yang dihadapinya. Pengetahuan tentang tanaman obat ini, merupakan warisan budaya bangsa berdasarkan pengalaman yang secara turun-temurun telah diwariskan oleh generasi terdahulu kepada generasi berikutnya termasuk generasi saat ini (Wijayakusuma, 1994). Dunia kedokteran modern pun banyak kembali mempelajari obat-obat tradisional. Tanaman berkhasiat obat ditelaah dan dipelajari secara ilmiah. Hasilnya pun mendukung bahwa tanaman obat mempunyai kandungan zat-zat atau senyawa yang secara klinis terbukti bermanfaat bagi kesehatan (Muhlisah, 2005).

Tanaman yang berkhasiat sebagai obat diantaranya mojo. Daun mojo digunakan pada bagian yang mengalami peradangan dan sangat manjur untuk bisul yang tidak sehat, daun muda dapat dimakan dan beberapa kejadian menyebabkan kemandulan atau aborsi, jus daun segar dapat digunakan sebagai tindakan pencahar dan keluhan asma, rebusan daun digunakan sebagai obat penurun panas (Hariana, 2007). Daun juga digunakan dalam abses, sakit punggung, gangguan perut, muntah, luka, basal, beri-beri, kelemahan jantung, kolera, diare, diabetes, luka yang disebabkan oleh hewan, gangguan saraf (George *et al.*, 2003).

Buah mojo dapat dimakan langsung atau dibuat serbat, sirup dan nektar buah dan digunakan sebagai obat disentri kronis, diare, dan sembelit. Kulit batang mojo dimanfaatkan untuk mengobati demam, digunakan untuk meracuni ikan. Kulit batang ini juga digunakan dalam gigitan anjing, masalah lambung, gangguan jantung, rematik. Akar mojo digunakan sebagai obat penenang obat debar jantung, gangguan pencernaan dan bengkak lambung (Veerappen *et al.*, 2000).

Penemuan imunostimulator, khususnya imunostimulator dari bahan alam, perlu dilakukan, mengingat mahalnya imunostimulator yang tersedia di pasaran (Kusmardi, 2007). Peningkatan pengembangan senyawa imunostimulator ini akan lebih bermakna apabila disertai dengan kajian yang berhubungan dengan kandungan senyawa aktif termasuk mekanisme kerjanya.

Pada penelitian ini diharapkan kulit batang mojo memberikan efek imunostimulator. Efek yang akan menguntungkan untuk peningkatan respon imun spesifik dan non spesifik. Pada penelitian sebelumnya buah mojo mengandung flavonoid memiliki potensi meningkatkan efek imunomodulator dalam model eksperimental imunitas seluler dan humoral dalam memodulasi sistem kekebalan tubuh pada dosis yang rendah (Phatru Patel *et al.*, 2010). Flavonoid berpotensi sebagai antioksidan yang dapat meningkatkan respon imun, khususnya sebagai mediator eksogen untuk mengaktifkan makrofag (Kusmardi, 2007). Makrofag merupakan salah satu sel yang berperan dalam respon imun, berperan fungsional dalam reaksi fagositosis. Dalam melakukan perannya diperlukan bantuan mediator endogen dan eksogen. Sehingga keberadaan flavonoid banyak diperlukan dalam reaksi imunitas.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah ekstrak etanol kulit batang mojo dapat memberi efek peningkatan aktivitas fagositosis sel makrofag dan proliferasi sel limfosit?
2. Apa kandungan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak etanol kulit batang mojo?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang tumbuhan mojo terhadap aktivitas fagositosis sel makrofag dan proliferasi sel limfosit.
2. Untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak etanol kulit batang mojo.

D. Keaslian Penelitian

Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian terdahulu mengenai tumbuhan mojo. Peneliti menguji bagian kulit batang mojo tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang mojo terhadap aktivitas dan fagositosis sel makrofag dan proliferasi sel limfosit. Penelitian ini dilakukan secara *in-vitro* dan merupakan eksperimental laboratorium.

Dari penelitian Phatel (2010) menyatakan bahwa ekstrak metanol buah mojo (*Aegle marmelos* L.) efektif meningkatkan efek immunomodulator dalam model eksperimental imunitas seluler dan humoral dalam memodulasi sistem kekebalan tubuh. Rahman (2014) menyatakan bahwa ekstrak daun mojo (*Aegle*

marmelos L.) meningkatkan fagositosis peritoneal makrofag dan limfosit pada mencit. Kumar (2012) menyatakan bahwa *Aegle marmelos* L. berpotensi sebagai immunomodulator secara *in vivo* pada tikus dengan SRBC sebagai antigen. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian terdahulu yaitu peneliti menguji sampel berupa kulit batang dengan berbagai konsentrasi dan antigen yang digunakan yaitu Engerik.

E. Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini diharapkan dapat:

1. Sebagai sumber informasi ilmiah dalam mengidentifikasi kulit batang mojo.
2. Sebagai sumber ilmu pengetahuan dan referensi untuk penelitian selanjutnya.
3. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat kulit batang mojo untuk tujuan pengobatan.