

**EFEK EKSTRAK AIR DAUN BANGUN-BANGUN (*Coleus amboinicus*, L)
PADA AKTIVITAS LIMFOSIT TIKUS PUTIH**

**THE EFFECT OF 'BANGUN-BANGUN' LEAVES (*Coleus amboinicus*, L) WATER EXTRACT ON THE RAT'S
LYMPHOCTYES ACTIVITY**

Christin Marganingsih Santosa, Siti Isrina Oktavia Salasia

**Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta,
Jl. Olahraga, Karangmalang, Yogyakarta, 55281**

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati efek pemberian ekstrak air Daun Bangun-bangun (*Coleus amboinicus*, L) terhadap aktivitas limfosit tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Digunakan 15 ekor tikus percobaan yang dibagi secara acak menjadi 3 kelompok, yaitu: kelompok A (kontrol aquades 19,0 g/kg bb/oral/hari), kelompok B (daun Bangun-bangun 19,0 g/kg bb/oral/hari), dan kelompok C (daun Bangun-bangun 31,5 g/kg bb/oral/hari). Perlakuan diberikan selama 2 bulan dengan pengambilan sampel darah pada hari ke-30 dan hari ke-60.

Pemberian Daun Bangun-bangun 19,0 g/kg bb dan 31,5 g/kg bb selama 30 dan 60 hari terbukti mampu menurunkan kematian sel limfosit bermakna ($p < 0,05$) pada hari ke-30 pada kelompok C. Dapat disimpulkan bahwa Daun Bangun-bangun yang dipergunakan dalam penelitian ini mampu meningkatkan fungsi sitotoksitas limfosit, yang bermanfaat untuk perlawanan tubuh terhadap agen penyakit yang datang.

Kata kunci: Daun Bangun-bangun (*Coleus amboinicus*, L), limfosit, aktivitas sitotoksik sel

ABSTRACT

This research was designed to find out the effect of *Bangun-bangun* (*Coleus amboinicus*, L) leaves water extract on lymphocytes activities of the rat (*Rattus norvegicus*).

Fifteen rats were divided into 3 experimental groups i.e., A (control aquadest 19,0 g / kg body weight (bw)/oral/day), B (*Bangun-bangun* leaves treatment 19,0 g /kg bw/oral/day), and C (*Bangun-bangun* leaves treatment 31,5 g / kg bw/oral/day). The treatment was given during 2 months. Blood sample was collected on 30 and 60 day.

The result shows that 19,0 g/Kg and 31,5 g/kg bw/oral/day *Bangun-bangun* leaves treatment decreased the cell death during 30 and 60 day, especially significant ($p < 0,05$) on 30 day at group C. In conclusion, *Bangun-bangun* leaves that was used in this research have been increasing lymphocyte cell cytotoxic activity, that is useful to protect the body from infection agents.

Key words: *Bangun-bangun* (*Coleus amboinicus*, L) leaves, lymphocyte, cell cytotoxic activity

PENDAHULUAN

Penelitian ini merupakan penelitian berkelanjutan eksplorasi Daun Bangun-bangun sebagai salah satu sumber bahan obat alami Indonesia. Daun Bangun-bangun (*Coleus amboinicus*, L.) merupakan salah satu etnobotani Indonesia yang secara turun temurun dimanfaatkan masyarakat Sumatra Utara sebagai menu sayuran sehari-hari dan terutama disajikan untuk ibu-ibu yang baru melahirkan, yang terbukti dapat meningkatkan total volume Air Susu Ibu (ASI), berat badan bayi, dan komposisi zat besi, seng, dan kalium dalam ASI (Santosa, 2002 ; Santosa *et al.*, 2002). Disamping manfaat tersebut, daun ini dapat digunakan sebagai obat asma dan bronkitis (Jain dan Lata, 1996), penyembuh luka, jamu penurun panas, atau langsung dikunyah untuk obat sariawan (Heyne, 1987). Di kepulauan China, jus daun ini dibuat obat batuk untuk anak-anak ditambah gula (Anonim, 1989). Kandungan minyak atsiri dari daun Bangun-bangun selain berdaya antiseptika ternyata juga mempunyai aktivitas tinggi melawan infeksi cacing (Vasquez *et al.*, 2000). Disamping itu, komponen daun ini sudah pernah dimasukkan sebagai komponen obat jamu ibu hamil yang ternyata menurut penelitian mempunyai sifat oksitosik (Nurendah 1982) dan analgesik (Hastuti dan Supadmi, 2000). Infus ekstrak daun tersebut dapat meningkatkan volume air susu induk tikus dan berat badan anaknya (Silitonga, 1993).

Sebagai salah satu sumber tanaman obat di Indonesia maka manfaat daun Bangun-bangun perlu digali dan dikembangkan terus menerus. Pengembangan obat tradisional dikatakan rasional apabila dilakukan melalui tahap-tahap sistematis pengembangan, yakni ditemukan bahan alami yang terbukti secara ilmiah memberi manfaat klinik dalam pencegahan atau pengobatan penyakit, dan tidak menyebabkan efek samping serius dalam arti aman sebagai obat untuk manusia, yang biasanya lebih dulu dilakukan pada hewan percobaan.

Limfosit berperan dalam imunitas seluler. Peranan limfosit dalam imunitas seluler dapat diklasifikasikan menjadi: pertama, *Immunoregulatory role* yaitu peranan limfosit dalam respon antibodi humoral, yang dilakukan oleh limfosit B dan *cell mediated immunity* (CMI) yang dilakukan oleh limfosit T. Kedua, *cytotoxic function* yaitu suatu fungsi lain dari limfosit T untuk memproduksi *progeny* yang mampu merusak atau menghancurkan sel-sel yang dianggap sebagai benda asing/antigen, misalnya sel-sel tumor dan sel-sel yang terinfeksi virus. Ketiga, Sekresi *lymphokines*. *Stimulated T lymphocytes* dapat mensintesa zat antibodi secara *invivo* atau *invitro* yang bersifat imunologik dan mempunyai kemampuan dalam proses peradangan, dinamakan limfokin. Limfosit B yang teraktivasi juga memproduksi limfokin yang dibebaskan apabila terjadi stimulasi

antigenik dan dapat dijumpai dalam sirkulasi selama terjadi respon imunitas. Sekresi limfokin dapat digolongkan atas dasar pengaruhnya pada sel target yaitu: menghambat, menstimulasi, dan inflamasi. Limfokin yang bersifat menghambat termasuk substansi yang dapat menyebabkan lisis misalnya limfotoksin atau mampu menghambat proliferasi misalnya *immune interferon* terhadap sel-sel sasaran. Limfokin yang bersifat menstimulasi meliputi faktor-faktor mitogenik yang ditujukan antara lain pada limfosit atau monosit. Limfokin yang bersifat inflamasi meliputi faktor-faktor yang berhubungan dengan CMI yaitu faktor penghambat migrasi (MIF), faktor pengaktif makrofag (MAF), faktor-faktor kemotaksis termasuk faktor yang mempengaruhi permeabilitas pembuluh darah dan sistem pembekuan darah (Jain, 1986).

Sejauh ini belum pernah dilaporkan efek pemberian Daun Bangun-bangun terhadap aktivitas proliferasi sel limfosit *in-vitro*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas biologik limfosit tikus yang diberi ekstrak air Daun Bangun-bangun. Dengan melakukan penelitian ini diharapkan dapat melengkapi informasi ilmiah daun Bangun-bangun yang berguna untuk memperkuat dasar pemanfaatan daun tersebut bagi tujuan pelayanan kesehatan formal (modern). Selain itu dari hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu penyebarluasan pemakaian tanaman obat tradisional di masyarakat Indonesia pada umumnya, berdasar kajian ilmiah yang telah dilakukan.

MATERI DAN METODE

Desain Penelitian

Lima belas ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) umur 2,5 - 3 bulan dengan berat badan rata-rata 200 gram diadaptasi selama 1 bulan. Selanjutnya tikus dibagi menjadi 3 kelompok masing-masing terdiri dari 5 ekor. Kelompok A sebagai plasebo diberi aquadest 19,0 g/kg berat badan (bb) *per oral* tiap hari. Kelompok B diberi ekstrak air daun Bangun-bangun dengan dosis 19,0 g/kg bb *per oral* tiap hari. Kelompok C diberi ekstrak air daun Bangun-bangun dengan dosis 31,5 g/kg bb *per oral* tiap hari. Perlakuan diberikan selama 60 hari. Pada hari ke 30 dan 60, tikus diambil darahnya untuk isolasi limfosit dalam rangka pemeriksaan aktivitas proliferasinya melalui pengukuran indeks stimulasi.

Pembuatan ekstrak air Daun Bangun-bangun

Daun Bangun-bangun dibuat menjadi ekstrak air sesuai penggunaan di masyarakat menurut yang tercantum pada Farmakope Indonesia (1972), cit. Silitonga, (1993). Daun dicuci terlebih dahulu, kemudian diangin-anginkan selama satu malam. Daun segar ini ditimbang, kemudian diiris tipis-

tipis, ditambahkan aquades 1:1 selanjutnya dipanaskan pada suhu 90° C selama 30 menit, setelah dingin disaring dengan kertas saring, kemudian diukur volume yang didapatkan.

Penentuan dosis ekstrak air Daun Bangun-bangun

Dosis ekstrak air untuk tikus ditentukan berdasarkan penelitian Santosa (2002), yaitu 150 gr/50 kg bb, kemudian dikonversikan ke tikus. Berdasarkan perhitungan konversi dosis antara manusia dan hewan (Laurence and Bacharach, 1964) diperoleh konversi dosis untuk manusia-70 kg ke tikus-200 gr adalah 0,018 sehingga dosis untuk kelompok B adalah 19 g/kg bb. Dengan perhitungan yang sama, untuk dosis 250 g/50 kg bb manusia, ditetapkan dosis kelompok C adalah 31,5 g/kg bb.

Isolasi limfosit

Pemisahan limfosit dilakukan dengan teknik *gradient density* menggunakan *Ficoll*. Sebanyak 3 mL darah yang mengandung antikoagulan diencerkan dengan PBS 3 mL, dialirkan pelan-pelan melalui dinding tabung yang telah berisi 3 mL larutan *Ficoll*. Tabung kemudian ditutup dan disentrifus dengan kecepatan 1600 rpm (*rotation per minute*) selama 8 menit pada suhu kamar sampai terbentuk 4 lapisan berturut-turut dari bawah ke atas adalah eritrosit dan granulosit, *Ficoll*, *buffy coat*, dan cairan plasma.

Sel-sel pada lapisan *buffy coat* yang telah dipisahkan dalam tabung steril ditambah 3 mL RPMI sampai volume 10 mL kemudian disentrifus dengan kecepatan 1600 rpm selama 10 menit, pencucian tersebut dilakukan 3 kali. Limfosit yang telah terpisah selanjutnya dikultur. Larutan limfosit dihitung dengan menggunakan hemositometer sehingga diperoleh konsentrasi kira-kira sebesar 4×10^6 sel/mL (Barta, 1993).

Aktivitas stimulasi limfosit

Aktivitas stimulasi limfosit dikerjakan dengan

cara mengkultur suspensi limfosit dalam tiap sumuran plat mikrotiter-96 masing-masing sebanyak 50 µL kemudian ditambahkan mitogen (*Concanavalin-A*) konsentrasi 20 µg/mL sebanyak 10 µg/mL tiap sumuran. Kultur ini dimasukkan dalam inkubator CO₂ 5%, 37°C, selama 72 jam. Sesudah itu ditambahkan MTT dalam RPMI ke dalam tiap-tiap sumuran, dengan konsentrasi 5 mg/mL sebanyak 10 µL dan diinkubasi kembali selama 4 jam. Setelah 4 jam, reaksi dihentikan dengan pemberian SDS 10% dalam 0,01 N HCl pada tiap sumuran sebanyak 50 µL. Plate dibungkus aluminium foil, disimpan dalam suhu kamar semalam, kemudian dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 550 nm dengan referensi 620.

Analisis data

Data dianalisis dengan ANOVA dan uji lanjut dengan Tukey HSD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bahan limfosit diambil dari darah tikus percobaan kelompok A, B, dan C masing-masing sebanyak 3 mL selanjutnya disentrifus untuk memisahkan komponen limfosit dari bagian darah yang lain. Limfosit yang diperoleh kemudian dikultur (**Gambar 1 dan 2**). Aktivitas proliferasi limfosit dapat diukur dari Indeks stimulasi (IS) yang diketahui dari *Optical Density (OD)* yang terbaca pada ELISA-reader. Indeks stimulasi menurut Barta (1993) dan Thiagarajan, *et al.* (1999) diperhitungkan sebagai *mean* sel-sel kultur yang terstimulasi (*CPM*) dibagi dengan *mean* sel-sel kultur kontrol (*CPM*). Stimulan yang dipergunakan adalah *Concanavalin-A* (Sigma). Efek Daun Bangun-bangun terhadap aktivitas limfosit tikus pada pengamatan hari ke-30 dan ke-60 tampak dalam **Tabel 1**.

Tabel 1. Efek ekstrak air Daun Bangun-bangun terhadap aktivitas sel limfosit tikus

KELOMPOK	PENGAMATAN I (30 hari)	PENGAMATAN II (60 hari)
A (aquadest 19,0 Kg/bb/oral/hari)	1,0433 ^a	0,5167 ^a
B (ekstrak air Daun Bangun-bangun 19,0 Kg/bb/oral/hari)	0,6300 ^a	0,2920 ^a
C (ekstrak air Daun Bangun-bangun 31,5 Kg/bb/oral/hari)	0,1650 ^b	0,2475 ^a

Keterangan : superskrip pada kolom yang sama dengan huruf yang berbeda menunjukkan beda bermakna (p<0,05)

Hasil pengukuran IS limfosit pengamatan I (hari ke-30) pada kelompok A adalah 1,0433, IS limfosit kelompok B adalah 0,6300 dan kelompok C sebesar 0,1650. Pengukuran IS limfosit kelompok A pada pengamatan II (hari ke-60) sebesar 0,5167, IS limfosit kelompok B sebesar 0,2920 dan kelompok C sebesar 0,2475. Terlihat bahwa IS limfosit kelompok A lebih tinggi daripada kelompok B dan C. Indeks stimulasi yang lebih tinggi pada kelompok tikus yang tidak diberi Daun Bangun-bangun menunjukkan bahwa daun Bangun-bangun mempunyai fungsi *cytotoxic*. Fungsi tersebut terlihat khususnya pada hari ke-30 dimana terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) IS limfosit C dibanding kelompok A.

Fungsi sitotoksik adalah suatu fungsi lain dari limfosit T untuk memproduksi *progeny* yang mampu merusak atau menghancurkan sel-sel yang dianggap sebagai benda asing/antigen, misalnya sel-sel tumor dan sel-sel yang terinfeksi virus. Penelitian ini membuktikan bahwa IS limfosit yang tinggi menunjukkan fungsi sitotoksik yang rendah, dimana kelompok A terlihat paling rendah dibandingkan dengan kelompok B dan C. Efektor limfosit yang berfungsi untuk fungsi sitotoksik adalah *T cell cytotoxic activity*, ekspresi dari *K (killer) cell activity* dan *NK (natural killer) cell activity* (Jain, 1986).

Dilihat dari dosis yang dipergunakan, pada pengamatan I dan II tampak bahwa dosis 31,5 g/kg bb memberikan pengaruh sitotoksitas lebih tinggi dibandingkan dengan dosis 19 g/kg bb. Lebih jauh dapat dilihat bahwa efek *cytotoxic* pada pengamatan II untuk kelompok B (IS = 0,2920) terlihat lebih rendah daripada kelompok C (IS = 0,2475), sebaliknya pada pengamatan I terlihat efek yang lebih tinggi pada kelompok C (IS = 0,1650) bila dibandingkan dengan kelompok B (0,6300). Dapat diduga bahwa pemberian Daun Bangun-bangun sebesar 31,5 g/kg bb selama 60 hari memperlihatkan efek optimum pada hari ke-30, sedangkan pemberian sebesar 19,0 g/kg bb memperlihatkan efek optimum pada hari ke-60.

Adanya suatu fungsi sitotoksik Daun Bangun-bangun menunjukkan bahwa daun ini kemungkinan berpotensi pula sebagai antitumor, sehingga untuk itu perlu dilakukan penelitian.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Dibilnlabmas Ditjen Dikti yang telah memberikan dukungan dana melalui proyek penelitian nomor : 18/P2IPT/DPPM/PID/III/2003 sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan (Dirjen POM). Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.

- Barta, O. 1993. *Monographs in Animal Immunology: Veterinary Clinical Immunology Laboratory*. Vol. 2. Bar-Lab Inc. USA.
- Hastuti, D, dan Supadmi, W. 2000. Daun Jinten sebagai Analgesik. *Majalah Tempo*. Jakarta.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. 3rd edition. Departemen Kehutanan Republik Indonesia. Jakarta.
- Jain, N.C. 1986. *Schalm's Veterinary Hematology*. 4th edition. Lea & Febiger. Philadelphia.
- Jain, S.K., dan Lata, S. 1996. Unique Indigenous Amazonian Uses of Some Plants Growing in India. *IK Monitor* 4(3) article 1996. <http://www.nuffic.nl/ciran/ikdm>.
- Laurence, D.R., and Bacharach, A.L. 1964. *Evaluation of Drug Activities*. Academic Press. London.
- Mardisiswojo, S., Rajakmangunsudarso, H. 1985. *Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang*. Jakarta : PN Balai Pustaka.
- Nurendah. 1982. *Laporan Penelitian Sifat Ekbolik Komponen Jamu yang Digunakan terhadap Kehamilan*. Jakarta : Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan. Jakarta.
- Santosa, C.M. 2002. Pengaruh Konsumsi Daun Bangun-bangun (*Coleus amboinicus*, L) Terhadap Potensi Sekresi ASI dan Komposisinya Pada Ibu Menyusui. *Majalah Farmasi Indonesia (MFI)* 13(3): 133-139.
- Santosa, C.M, Widjajakusuma, R., Rimbawan, Bukit, P. 2002. The Effect of 'Bangun-bangun' Leaves (*Coleus amboinicus*, L) Consumption by Lactating Mothers on Milk Secretion and Breast-fed Infant Growth. *Abstract. J of The ASEAN Federation of Endocrine Societies (JAFES)* 20(1): 150S.
- Silitonga, M. 1993. *Efek Laktagogum Daun Jinten (Coleus amboinicus, L.) pada Tikus Laktasi*. Tesis Magister Program Studi Biologi, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Thiagarajan, D., Ram, G.C., and Bansal, M.P. 1999. Optimum condition for in vitro chicken IL-2 production and its in vivo role in Newcastle disease vaccinated chickens. *Vet. Immun. and Immunopath.* 67: 79-91.
- Vasquez, E.A., Kraus W., Solsoloy, A.D., Rejesus, B.M. 2000. The Use of Spices and Medicinal: Antifungal, Antibacterial, Anthelmintic, and Molluscicidal Constituents of Philippine Plants. <http://www.faoorg/docrep/x2230e/x2230e8.htm>.