

IDENTIFIKASI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOLIK BUAH MANGGA (*Mangifera indica* L.) PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*) SEBAGAI PRODUK IMUNOGLOBULIN (IgM)

Herwin, Meilani

Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar
Email : herwinfarmasi@gmail.com

ABSTRACT

Mango fruit (*Mangifera indica* L) is a plant which grow in Indonesia and contain antioxidant as carotenoid (Vitamin A), vitamin C and also various phenolic compound. The aim of the investigation was to find out the activity of ethanol extract of mango fruit on male guinea pig (*Mus musculus*) as an immunoglobulin product. The test of immunomodulator was using hemagglutination antibody titer. The extracts were in concentration of 2%,4%,6%,8% and 10% administered orally 1 mL/30 g BW of the mouse which pre-immunized with 2% v/v red blood cells of the lamb. The results showed that the activity of the IgM in day seventh was raised in concentration extract 6% and 8% w/v while concentration extract 2% and 10% were the same to the control and the averages titer of immunoglobulin was 1/8, on the other hand concentration of the extract 4% was low in IgM activity was 1/4.

Keywords: Ethanol Extract of Mango Fruit Activity (*Mangifera indica* L), Male Mouse (*Mus musculus*), Immunoglobulin (IgM).

PENDAHULUAN

Mangga (*Mangifera indica* L) merupakan tumbuhan yang banyak ditemukan di Indonesia. Rasa buah mangga yang manis-asam, bertekstur lunak, dan berwarna kuning-jingga ternyata memiliki beragam manfaat. Dalam daging buah mangga terkandung berbagai macam zat gizi yang bermanfaat bagi kesehatan. Kandungan antioksidan seperti karotenoid (vitamin A) dan vitamin C berperan dalam pencegahan penyakit

kanker, Semeritara itu, kandungan kalium dan vitamin C berperan dalam pemeliharaan kesehatan jantung. Senyawa fenol seperti asam ellagat, gelatolin, dan mangiferin yang terkandung dalam mangga dapat memberikan kontribusi bermanfaat terhadap kesehatan. Senyawa fenol ini dipercaya berguna untuk memperbaiki sel-sel yang teroksidasi oleh radikal bebas penyebab kanker dan penyakit degeneratif lainnya. Selain berperan sebagai antikanker, senyawa fenol

seperti mangiferin dan asam ellagat berperan sebagai antiinflamasi yang dapat membantu meningkatkan sistem imunitas tubuh.¹

Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa mangga memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker dimana aktivitasnya diukur dengan memeriksa efek pada kinetika siklus sel dan kemampuan untuk menghambat induksi kimia transformasi neoplastik dari garis sel mamalia. Dari penelitian tersebut didapatkan bahwa seluruh jus mangga efektif dalam mengurangi jumlah perubahan foci dalam uji transformasi neoplastik secara tergantung dosis.² Pada penelitian identifikasi aktivitas imunoglobulin M (Ig.M) ekstrak etanolik daun ceplukan (*physalis minima linn.*) pada mencit didapatkan hasil bahwa ekstrak etanolik daun Ceplukan (*Physalis minima* Linn.) konsentrasi 4%, 8% dan 12% b/v dapat meningkatkan aktivitas Ig.M dimana ceplukan mengandung asam klorogenat, asam citrun, fisalin, alkaloid dan polifenol.³

Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian pengaruh ekstrak etanolik buah mangga pada mencit (*Mus musculus*) jantan terhadap aktivitas Immunoglobulin M (IgM) sehingga dapat digunakan

sebagai obat tradisional dalam bidang farmasi.

METODE PENELITIAN

Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia Makassar tahun 2016.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah alat rotavapor, autoklaf, batang pengaduk, Erlenmeyer, labu alas bulat, mikropipet, piring Mikrotitrasi (*Wheel plate*) 96 lubang, sentrifuge, tabung venoject, timbangan analitik, timbangan gram, tip pipet, *water bath*.

Bahan-bahan yang digunakan adalah alumunium foil, Sel darah merah Domba, etanol, Mencit (*Mus musculus*), Kertas saring, Na CMC, larutan PBS, buah mangga (*Mangifera indica* L.).

Prosedur Penelitian

Penyiapan Sampel

Sampel yang digunakan yaitu mangga golek sebanyak 10 kg diiris tipis dan dikeringkan dalam oven pada suhu 37-40°C selama 4-5 jam kemudian dijemur sampai diperoleh berat konstan (kering). Buah mangga kering kemudian dihaluskan menjadi serbuk, hasil yang diperoleh digunakan sebagai sampel penelitian.

Ekstraksi Buah Mangga

Daging buah mangga yang telah kering dihaluskan dengan blender. Kemudian dimaserasi dengan etanol 96% sampai semuanya terendam. Diaduk sekali sekali dan dibiarkan selama 5 hari kemudian disaring dan ampasnya dimaserasi lagi. Perlakuan ini dilakukan secara berulang sebanyak tiga kali yang masing-masingnya selama 5 hari. Semua filtrat disatukan, kemudian didestilasi vakum dan hasil destilat dikentalkan dengan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental.

Penyiapan Bahan

Pembuatan Phospat Buffered Saline (PBS)

Phospat Buffered Saline (PBS) disiapkan dengan terlebih membuat larutan A yaitu larutan $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1,38 g/L dan KCl 8,3 g/L dan larutan B yaitu larutan NaH_2PO_4 1,42 g/L dan NaCl 8,5 g/L. selanjutnya 280 mL larutan A ditambahkan pada 720 mL larutan B.

Penyiapan Suspensi Sel Darah Merah (SDMD) 2 %

Sebanyak 1 mL darah domba ditampung dalam tabung yang bersih dan telah dikeringkan yang berisi dengan 1 mg EDTA yang berfungsi sebagai antikoagulan. Kemudian

disentrifus pada kecepatan 1500 rpm untuk memisahkan sel darah merah domba (SDMD) dari plasmanya. Sel darah merah domba yang didapatkan dicuci dengan PBS dalam tabung, lalu tabung tersebut dibolak-balik beberapa kali, kemudian disentrifus kembali. Pencucian dilakukan paling sedikit 3 kali. Setelah disentrifus, PBS dipisahkan sehingga yang ter-tinggal adalah SDMD 100%, lalu ditambahkan lagi PBS dengan jumlah yang sama hingga diperoleh suspensi SDMD 50%, kemudian sebanyak 0,4 mL diencerkan dengan 9,6 mL PBS hingga diperoleh suspensi antigen dengan konsentrasi SDMD 2 % v/v.

Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Buah Mangga

Ekstrak etanol buah mangga dibuat dengan menambahkan larutan koloidal Na-CMC 1% b/v sebagai pembawa, dibuat dalam konsentrasi 2% b/v, 4% b/v dan 6% b/v, 8% dan 10%. Cara pembuatan konsentrasi 2% b/v adalah dengan menimbang ekstrak sebanyak 2 gram kemudian digerus dalam lumpang, lalu ditambahkan larutan Na-CMC 1% b/v dalam labu terukur 100 mL hingga tanda. Untuk membuat suspensi ekstrak dengan konsentrasi 4% b/v, 6% b/v, 8% dan 10% b/v dilakukan dengan cara yang sama dengan menimbang ekstrak

Identifikasi Aktivitas Ekstrak Etanolik Buah Mangga (Mangifera indica L.) Pada mencit jantan (Mus musculus) Sebagai Produk Immunoglobulin (IgM)

masing-masing sebanyak 4 gram, 6 gram, 8 gram dan 10 gram. Suspensi dibuat segar setiap kali pertakuan.

Tahapan Perlakuan Hewan Coba Mencit Jantan (*Mus musculus*)

Perlakuan Hewan Coba Mencit Jantan.

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) yang sehat dengan bobot badan 20 – 30 g, sebanyak 18 ekor dimana 1 kali perlakuan menggunakan 3 mencit yang akan diberi perlakuan. Perlakuan 1 adalah pemberian NaCMC sebagai kontrol, perlakuan 2 adalah pemberian ekstrak buah mangga 2 %, perlakuan 3 dengan ekstrak buah mangga 4%, perlakuan 4 dengan ekstrak buah mangga 6%, perlakuan 5 dengan ekstrak buah mangga 8%, dan perlakuan 6 dengan ekstrak buah mangga 10%.

Imunisasi Hewan Coba Mencit Jantan Secara Intraperitoneal

Mula-mula mencit diimunisasi secara intraperitoneal dengan SDMD 2 % sebanyak 1 mL. Selanjutnya masing-masing diberi sediaan seperti di atas dengan volume 1 mL per 30 gram bobot badan secara oral setiap hari selama 5 hari untuk pengamatan terhadap IgM. Pada hari ke-6, darah mencit jantan diambil untuk mengetahui aktivitas IgM. Cuplikan

darah dibiarkan membeku atau menggumpal pada suhu kamar selama 2 jam, lalu disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dan diambil serumnya (supernatan).

Pengujian Hewan Coba Mencit Jantan (*Mus musculus*) Secara Hemaglutinasi

Serum yang diperoleh lalu diencerkan secara “double dilution” dengan PBS dengan perbandingan 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, dan 1/512. Dari masing-masing perbandingan ini dipipet sebanyak 50 μ L ke dalam 8 sumur piring mikrotiter (*well plate 96*) untuk setiap konsentrasi ekstrak etanol buah mangga, setelah itu ditambah-kan 50 μ L suspensi sel darah merah domba 2 % pada setiap sumur dan digoyang-goyang selama 5 menit agar homogen. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit dan didiamkan 24 jam pada suhu kamar. Setelah itu, dilakukan pengamatan pengenceran tertinggi dari setiap serum darah mencit jantan yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba. Pengamatan secara hemaglutinasi, yaitu antibodidiinduksi dengan antigen dengan sel darah merah domba (SDMD), 24 jam setelah diinduksi dilakukan pemberian ekstrak selama 5 hari berturut-turut untuk

Identifikasi Aktivitas Ekstrak Etanolik Buah Mangga (Mangifera indica L.) Pada mencit jantan (Mus musculus) Sebagai Produk Immunoglobulin (IgM)

pengamatan IgM. Efek sebagai imunomodulator diamati dari terjadinya aglutinasi pada serial pengenceran serum (mengandung antibodi) saat sel darah merah domba (SDMD) ditambahkan kembali dalam sumur mikrotiter.

HASIL PENELITIAN

Hasil Ekstraksi Buah Mangga (Mangifera indica) Dengan Metode Maserasi

Buah mangga yang telah dikeringkan sebanyak 500 g diekstraksi secara maserasi menggunakan cairan penyari diperoleh ekstrak etanol 85,055 g, terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Maserasi Buah mangga menggunakan etanol 96 %.

No.	Pengamatan	Bobot Maserasi
1.	Berat Sampel	500 g
2.	Jumlah cairan penyari	6000 mL
3.	Jumlah ekstrak cair	3050 mL
4.	Bobot ekstrak	85,055 g
5.	Persentase ekstrak (%) rendamen	17,010 %

$$\% \text{ rendamen} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot sebelum diekstraksi}} \times 100 \% = \frac{85.055}{500.0131} \times 100 \%$$

$$= 17,010\% .$$

Pengujian Hewan Coba Mencit Jantan (Mus musculus) Secara Hemaglutinasi

Tabel 2. Profil Titer Immunoglobulin M (IgM) pada sumur mikrotitrasi dengan interpretasi hasil berdasarkan hemaglutinasi setelah pemberian ekstrak etanol buah Mangga (Mangifera indica L)

Pengenceran	1	2	3	17	18	7	8	9	10	11	13	14	N	N	N		
	2%			4%			6%			8%			10%			Kontrol (-)	
1/512	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-		
1/128	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-		
1/64	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-		
1/32	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-		
1/16	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-		
1/8	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
1/4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

Tabel 3. Titer Immunoglobulin M (IgM) pada mencit setelah pemberian sel darah merah domba (SDMD) 2% yang diinduksi dengan ekstrak etanol buah Mangga (*Mangifera indica* L)

Replikasi	Titer Immunoglobulin M (IgM)					
	2%	4 %	6 %	8 %	10%	Kontrol (-)
1	1/8	1/4	1/32	1/512	1/8	1/8
2	1/8	1/4	1/16	1/128	1/8	1/8
3	1/8	-	1/18	-	-	1/8

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya antibodi yang terbentuk didalam tubuh mencit setelah pemberian ekstrak etanol buah mangga. Antibodi adalah globulin protein (immunoglobulin) yang akan bereaksi secara spesifik dengan antigen yang menstimulasi produksi dari respon imun.

Pada penelitian ini, digunakan antigen berupa sel darah merah domba (SDMD) yang bersifat tidak larut, sehingga metode yang digunakan adalah metode hemaglutinasi (aglutinasi menggunakan sel darah merah oleh antibodi).

Pengamatan aktivitas immunoglobulin dilakukan dengan melihat aglutinasi yang terjadi dan dihitung sebagai titer antibodi yaitu pengenceran tertinggi dari serum darah mencit yang masih

menunjukkan reaksi aglutinasi positif pada sumur mikrotitrasi. Hasil akhir dari uji hemaglutinasi dapat ditentukan dengan melihat pola pengendapan sel darah merah pada dasar *well plate*. Apabila sel darah merah membentuk titik berwarna merah pada pusat sumur dan terlihat bening uji dinyatakan negatif. Sel yang teraglutinasi akan menyebar pada cairan di dalam sumuran.

Dari hasil pengamatan titer aglutinasi, menunjukkan peningkatan aktivitas immunoglobulin M (IgM). Hal ini dapat dilihat pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol buah mangga dengan konsentrasi 6% dan 8% b/v titer immunoglobulin masing-masing sebesar 1/32 , dan 1/512 sedangkan pada ekstrak etanol buah mangga konsentrasi 2% dan 10% sama dengan kelompok perlakuan kontrol, rata-rata titer immunoglobulinnya hanya 1/8 dan pada

konsentrasi 4% mengalami penurunan aktivitas imunoglobulin M yaitu 1/4. Hal ini diduga disebabkan karena respon imun sangat ditentukan oleh kesetimbangan jumlah antigen dan antibodi. Apabila jumlah dari antigen atau antibodi tidak seimbang (salah satu diantaranya berlebihan) maka pembentukan antibodi akan terganggu.

Berdasarkan pengamatan pengenceran tertinggi dari serum darah mencit yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba 2% memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak etanol buah mangga memberikan efek terhadap peningkatan aktivitas Imunoglobulin M (IgM).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian bahwa ekstrak etanol buah mangga (*Mangifera indica* L) dapat meningkatkan aktivitas Imunoglobulin M (IgM) pada mencit jantan (*Mus musculus*) dengan konsentrasi minimal ekstrak etanolik buah mangga adalah 6%, dan 8%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Puspaningtyas DE. The Miracle of Fruits. Jakarta : Agromedia Pustaka, 2013.
2. Percivel dkk. Neoplastic transformation of BALB/3T3 cells and cell cycle of HL-60 cells are inhibited by mango (*Mangifera indica* L.) juice and mango juice extracts. J Nutr 2006;136(5):1300-1304
3. Effendi N, Widiastuti H. Identifikasi Aktivitas Imunoglobulin M (IGM) ekstrak etanolik daun Ceplukan (*Physalis minima* linn.) pada mencit (*Mus musculus*). Volume VII No. 2/2014.