

Uji Fitokimia dan Pengaruh Ekstrak Etanol Batang Betadin (*Jatropha Multifida L*) terhadap Jumlah Leukosit Mencit (*Mus Musculus*) Jantan Diinduksi Imunos

Oleh: Eka Lokaria¹, Zico Fakhurur Rozi², dan Dyani Triwulan Siptiani WS³
(ekalokaria23@yahoo.com, zico.fakhrurrozi@gmail.com, dyanitriwulan_septianiws@yahoo.com)

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada dalam ekstrak *J. multifida L.* serta pengaruhnya terhadap jumlah Leukosit mencit (*M. musculus*) jantan yang telah diinduksi Imunos. Pada pengujian senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak kasar etanol batang *J. multifida L.* adalah alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Pada uji pengaruh ekstrak etanol batang *Jatropha multifidaL.*, hewan coba yang digunakan adalah 30 ekor *Mus musculus* jantan *Swiss Webster* yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan. Kelompok I sebagai kelompok kontrol, kelompok II diinduksi imunos, kelompok III diinduksi imunos dan Prednikson, kelompok IV diinduksi imunos dan diberikan ekstrak dengan dosis 0,028 g/Kgbb, Kelompok V diinduksi Imunos dan diberikan ekstrak dengan dosis 0,056 g/Kgbb dan Kelompok VI diinduksi Imunos dan diberikan ekstrak dengan dosis 0,084 g/Kgbb. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol dari batang *Jatropha multifidaL.* mampu menurunkan jumlah leukosit *Mus musculus* jantan yang telah diinduksi Imunos dengan optimum pada dosis 0,028 g/Kgbb sebesar 10.230/ mm³.

Kata kunci: Uji Fitokimia, Ekstrak Etanol Batang Betadin, Jatropha multifida L, Mus musculus.

A. Pendahuluan

Data dari organisasi kesehatan dunia yaitu WHO, menunjukkan bahwa setiap 11 menit ada satu penduduk dunia meninggal karena kanker dan setiap 3 menit ada satu penderita kanker baru. Dalam waktu singkat, kanker telah menyebabkan kematian yang cukup tinggi pada populasi penduduk. Di Indonesia kanker menempati peringkat keenam penyebab kematian (Tjindarbumi and Mangunkusumo, 2000).

Leukemia adalah nama lain untuk kanker darah yang sangat berbahaya bagi kelangsungan hidup manusia. Kanker yang terjadi pada darah atau sumsum tulang akibat perbanyakan sel-sel pembentuk darah di sumsum tulang dan jaringan limfoid. Sering kali proses perbanyakan sel tersebut terjadi di leukosit, yaitu sel darah putih. Pada saat itu, sel-sel darah putih yang seharusnya berfungsi dalam sistem pertahanan tubuh berubah dan memproduksi secara banyak serta tidak terkontrol.

Dengan semakin, teknologi terbaru yang dilakukan untuk pengobatan intensif kanker darah, di antaranya kemoterapi, radioterapi, serta terapi antibiotik dan suportif. Namun, obat herbal dapat menjadi pilihan yang sangat tepat karena dewasa ini khasiat obat herbal telah banyak ditemukan, baik sebagai obat alternatif maupun untuk pemeliharaan kesehatan. Kemajuan teknologi dan ilmu pengetahuan ternyata tidak mampu menghilangkan peranan pengobatan tradisional. Salah satu pengobatan alternatif yang

^{1 & 2} Dosen Program Studi Pendidikan Biologi STKIP PGRI Lubuklinggau

³ Mahasiswa Program Studi Pendidikan Biologi STKIP PGRI Lubuklinggau

dilakukan adalah meningkatkan penggunaan tumbuhan berkhasiat obat di kalangan masyarakat (Yuharmen, 2002).

Tanaman berkhasiat sebagai obat sudah banyak ditelaah dan dipelajari secara ilmiah. Hasil penelitian mendukung bahwa tanaman obat memang memiliki kandungan zat-zat atau senyawa yang secara klinis terbukti bermanfaat bagi kesehatan (Hariana, 2006). Tumbuhan dapat digunakan sebagai obat tradisional, karena di dalam tumbuhan itu sendiri terkandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki keaktifan biologis seperti Steroid, Flavonoid, Terpenoid, Triterpenoid, Kumarin, Kromon, Kuinon, Resin, dan sebagainya.

Secara umum, kegunaan tumbuhan obat sebenarnya disebabkan oleh kandungan kimia yang dimilikinya. Namun, tidak seluruh kandungan kimia diketahui secara lengkap karena pemeriksaan bahan kimia dari satu tanaman memerlukan biaya yang sangat mahal. Meskipun tidak diketahui secara rinci, tetapi pendekatan farmakologi menghasilkan informasi kegunaan tumbuhan obat (Hariana, 2006).

Senyawa kimia aktif yang berasal dari tumbuhan sangat penting dalam bidang pengobatan maka perlu dilakukan suatu penelitian yang sistematis untuk mendapatkan senyawa-senyawa dari tumbuhan yang belum pernah diteliti sebelumnya. Metabolit sekunder dalam tumbuhan biasanya tersebar merata ke seluruh bagian tumbuhan, tetapi dalam kadar yang berbeda-beda. Salah satunya pada tanaman jarak tintir yang oleh masyarakat Lubuklinggau lebih dikenal dengan tanaman betadin (*J. multifida* L).

J. multifida L merupakan salah satu tanaman obat yang tumbuh di Indonesia dari family Euphorbiaceae. Masyarakat Indonesia biasa memanfaatkan tanaman ini sebagai obat tradisional. Getah batang digunakan sebagai obat luka baru. Tumbuhan ini juga sering dimanfaatkan sebagai tanaman hias karena memiliki bunga yang indah. *J. multifida* L juga mengandung minyak dengan kadar 32-40% (Prihandana dan Hendroko, 2006). Tumbuhan ini memiliki efek farmakologis di antaranya penurun panas, anti-inflamasi, dan menghambat pendarahan. Penggunaan tanaman *J. multifida* L ini bisa berasal dari batangnya, yaitu dengan cara mengoleskan getah batang pada bagian luka yang baru (Hariana, 2006).

Dari permasalahan-permasalahan yang ada, maka ditindaklanjuti dengan melaksanakan penelitian untuk mengetahui: (1) senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak batang *J. multifida* L dan (2) aktivitasnya terhadap jumlah leukosit *M. Musculus* jantan yang diinduksi Imunos. Penginduksian Imunos dimaksudkan untuk meningkatkan jumlah sel leukosit pada *M. Musculus*. Hasil penelitian diharapkan

dapat memberikan nilai guna atau manfaat dari aspek ilmu pengetahuan di bidang farmakologi dan fisiologi hewan dan dapat menjadi sumber informasi ilmiah bahwa batang tanaman *J. multifida L* mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat berguna untuk menurunkan jumlah leukosit abnormal, dan sebagai salah satu obat tradisional kanker. Selain itu, senyawa metabolit yang terkandung dalam *J. multifida L* dapat menjadi sumber referensi untuk penelitian lanjutan tentang tanaman ini.

B. Landasan Teori

1. Tanaman Jarak Tintir (*J. multifida L*)

Tanaman *J. multifida L* merupakan jenis tanaman tahunan, berbentuk semak berakar tunggang, tinggi tanaman sekitar 2 meter dengan batang bulat berkayu, pangkalnya membesar, bergetah, dan tampak jelas bekas menempelnya daun. Ketika masih muda batang berwarna hijau dan setelah tua berwarna putih kehijauan. Jarak tintir berdaun tunggal, berdaun hijau, ujung runcing, berbentuk hati, pangkal membulat, panjangnya 15-20 cm, lebar 2,5-4 cm bercangap, pertulangan menjari, dan tepi rata. *J. multifida L* memiliki rasa agak pahit dan bersifat netral. Beberapa bahan kimia yang terkandung dalam tanaman ini di antaranya α -amirin, kampesterol, 7 α -diol, stigmaterol, β -sitosterol, dan HCN. Batangnya mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin (Hariana, 2006).

Pasaribu *et al* (2008) dalam penelitiannya tentang uji fitokimia, toksisitas, dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol batang *J. multifida L*. diketahui bahwa batang *J. multifida L* mengandung senyawa metabolit sekunder yakni: alkaloid, flavonoid, dan fenolik. Ekstrak *J. multifida L* memiliki potensi bioaktivitas yang rendah terhadap larva udang (*Artemia salina Leach*) dan menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya yang ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk.

Yunitasari (2011), senyawa aktif yang terkandung pada batang *J. multifida L* adalah golongan flavonoid. Senyawa 1 dan 2 diduga senyawa glukosida non-sianogenik nitril yaitu 1-siano-3- β -D-glukopiranosiloksi-(Z)-1-metil-1-propena dan multifidol dan senyawa 3 diduga senyawa multifidol dan glukosidanya. Dengan rendemen total flavonoid sebesar 0,474% dan dapat meningkatkan jumlah trombosit pada *M. musculus* jantan *Swiss Webster*, dosis 0,84 mg/Kgbb sebesar 555.000/mm³, dan dosis 1,68 mg/Kgbb sebesar 820.000/mm³.

2. Sel Darah Putih

Keadaan bentuk dan sifat dari leukosit berbeda dengan eritrosit, tidak berwarna, bentuknya lebih besar dari eritrosit, dapat berubah-ubah, dan bergerak dengan perantaraan

kaki palsu (Pseudopodia). Leukosit mempunyai bermacam-macam inti sel dan banyaknya antara 6.000–9.000/mm³ dalam tubuh. Fungsi utama leukosit adalah sebagai pertahanan tubuh dengan cara menghancurkan antigen (kuman, virus, dan toksin) dan dikerahkan ke tempat-tempat infeksi dengan jumlah berlipat ganda.

Leukosit dapat bergerak dari pembuluh darah menuju jaringan, saluran limfe, dan kembali lagi ke dalam aliran darah. Leukosit bersama sistem makrofag jaringan atau sel retikuloendotel dari hepar, limpa, sumsum tulang, alveoli paru, mikroglia otak, dan kelenjar getah bening melakukan fagositosis terhadap kuman dan virus yang masuk. Setelah di dalam sel, kuman/virus dicerna dan dihancurkan oleh enzim pencernaan sel.

3. Leukimia

Kondisi jumlah leukosit di atas batas normal disebut leukemia atau leukositosis. Sel darah putih juga bisa berkembang biak melebihi batas normal, meski tubuh tidak diserang infeksi. Sumsum tulang belakang memproduksi sel-sel darah putih dalam jumlah yang sangat banyak. Sayangnya tidak semua sel darah putih tersebut layak disebut sel normal. Kebanyakan dari mereka tidak normal atau tidak berfungsi selayaknya.

Jika berlangsung terus jumlah sel darah putih abnormal ini akan menumpuk dan berbalik menyerang fungsi organ tubuh kita sendiri. Hal ini bisa disebabkan banyak hal. Yang paling umum ditemui adalah karena kanker darah atau kanker leukemia. Kanker ini memiliki banyak variasi dan bisa menyerang orang dewasa maupun anak-anak. Peningkatan leukosit juga bias disebabkan oleh obat-obatan (Imunos, aspirin, prokainmid, alopurinol, kalium yodida, sulfonamide, heparin, digitalis, epinefrin, litium, dan antibiotik terutama ampicilin, eritromisin, kanamisin, metisilin, tetracycline, vankomisin, dan streptomycin)

4. Mencit (*Mus musculus*)

Tikus putih atau mencit biasa digunakan dalam percobaan laboratorium karena mudah dikembangbiakkan dan mudah dalam perawatannya, juga memiliki anatomi fisiologi dari organ-organ hewan tersebut yang sistematis kerjanya hampir sama dengan fungsional anatomi organ manusia, sehingga uji yang dicobakan pada tikus putih yang menyangkut struktur fisiologi anatomi dan hasil selanjutnya dapat diaplikasikan pada manusia (Novita, 2012).

Beberapa sub-spesies dari *M. musculus* yaitu *M. musculus bactrianus* (mencit Asia bagian barat daya); *M. musculus castaneus* (mencit Asia bagian tenggara); *M. musculus domesticus* atau *M. domesticus* (mencit Eropa bagian barat); *M. musculus gentilulus*; *M. musculus homourus*; *M. musculus molossinus*; *M. musculus musculus* (mencit Eropa

bagian timur); *M. musculus praetextus*; dan *M. musculus wagneri*.

Data yang berhubungan dengan sifat biologis pada mencit dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Biologis Mencit (*M. musculus*)

Kriteria	Keterangan
Lama Hidup	1-2 tahun, dapat sampai 3 tahun
Lama produksi ekonomis	9 bulan
Lama bunting	19-21 hari
Umur dewasa	35 hari
Umur dikawinkan	8 minggu (jantan dan betina)
Berat lahir	0,5 – 1,0 g
Berat Dewasa	20-40 g (jantan); 18-35 g (betina)
Kecepatan tumbuh	1 g/ hari
Volume darah	75-80 mL/Kg
Sel darah merah	$7,7-12,5 \times 10^6 / \text{mm}^3$
Sel darah putih	$6,0-12,6 \times 10^3 / \text{mm}^3$
Trombosit	$150-400 \times 10^3 / \text{mm}^3$

Sumber: Smith dan Mangkoewidjojo (1988)

C. Metodologi Penelitian

Metode dalam penelitian ini menggunakan metode kuantitatif dengan analisis *One Way Anova*. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: erlenmeyer 2 L, *rotary evaporator*, erlenmeyer 250 mL, gelas ukur 10 mL, gelas ukur 50 mL, gelas kimia 250 mL, tabung reaksi, rak tabung, penjepit tabung, corong, penangas air, sudip, batang pengaduk, seperangkat alat destilasi, alu dan lumpang, neraca analitik, cawan penguap, timbangan mencit, kandang mencit, nampan plastik, ram kawat, botol plastik, *blue tip*, mikroskop binokuler, alat *gavage*, hemositometer, pisau steril, statif dan klem. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Sampel batang *J. multifida L.*, pita Mg, larutan *Turk*, Etanol 96%, HCl 6 M, HCl 2 M, NaCl, metanol, Aquades, pereaksi *mayer's*, pereaksi *wagner*, H₂O, H₂SO₄ pekat, CH₃COOH glasial, FeCl₃ 1 %, HgCl₂, KI, Imunos, Prednikson, Aluminium foil, kertas saring, mencit (*M. musculus*) jantan berumur 7-12 minggu atau lebih, dan pakan mencit.

Teknik analisis data dengan beberapa langkah kerja sebagai berikut:

1. Penanganan Sampel

Sampel tanaman *J. multifida* L diperoleh dari Kota Lubuklinggau. Batang tanaman *J. multifida* L yang telah dipilih, dilayukan, dan dipotong kecil-kecil lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa cahaya matahari langsung.

2. Uji Fitokimia *J. multifida* L

a. Identifikasi flavonoid

Sebanyak 30g ekstrak kasar etanol ditambahkan dengan 100 ml air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 ml ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Chozin, 1996)

b. Identifikasi Alkaloid (uji *Meyer's* dan *Wagner*)

Sebanyak 50 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 10 mL HCl 1 M kemudian disaring. Filtrat kemudian diuji dengan beberapa pereaksi:

1. Pereaksi *Mayer*

Sebanyak 4 mL filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda kemudian ditambahkan 1 mL pereaksi *Mayer's*. Terbentuknya endapan putih atau krem mengindikasikan uji positif alkaloid. Reagen *Mayer's* dibuat dengan melarutkan 1,358 g HgCl₂ dalam 60 mL aquadest dan 5 g KI dilarutkan dalam 10 mL aquadest. Kedua larutan dicampur dan diencerkan sampai volume 100 mL (Ayoola et al., 2008).

2. Pereaksi *Wagner*

Sebanyak 4 mL filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda kemudian ditambahkan 1 mL pereaksi *Wagner*. Endapan jingga sampai merah coklat mengindikasikan sampel mengandung alkaloid (Raaman, 2006).

3. Identifikasi Terpenoid

Fraksi yang larut dalam dietil eter dan uji saponin dipisahkan, kemudian ditambahkan CH₃COOH glacial dan H₂SO₄ pekat. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Triterpenoid memberikan warna merah atau ungu (Kadarisma, 2000)

4. Uji Saponin

Sampel 50 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 20 mL *aquadest*. Campuran dikocok selama 15 menit. Terbentuknya lapisan busa setinggi 2 cm mengindikasikan adanya saponin (Raaman, 2006).

5. Tanin

Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL *aquadest* yang mendidih, kemudian disaring. Filtrat ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl_3 1%. Adanya warna hijau kecoklatan atau biru-hitam menunjukkan sampel mengandung tanin (Ayoola *et al*, 2008).

6. Steroid

Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL CH_3COOH glasial. Kemudian, ditambahkan 3 mL H_2SO_4 pekat untuk membentuk lapisan. Terbentuk warna biru sampai hijau menunjukkan steroid positif. Warna merah kecoklatan sampai ungu.

7. Uji Aktivitas terhadap Leukosit *M.musculus* Jantan

a. Penyediaan Mencit

Mencit (*M. musculus*) jantan didatangkan dari peternak mencit yang ada di Bengkulu. Kandang mencit akan dibuat dari nampan plastik yang diberi sekam padi sebagai alas dan ditutup dengan ram kawat, kemudian nampan tersebut disusun pada rak yang tersedia. Mencit dipelihara di dalam kandang dan diberikan penerangan 12 jam (jam 06.00-18.00), selama pemeliharaan mencit rata-rata suhu ruangan minimum $23,6^{\circ}\text{C}$ dan maksimum 26°C , serta kelembapan 80,6%.

b. Konversi Dosis

Belum diketahui literatur yang menyatakan dosis penggunaan ekstrak batang *J. multifida* L Pada penelitian ini konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam batang *J. multifida* L juga belum diketahui. Jadi, untuk penelitian ini digunakan dosis yang disesuaikan dengan penelitian sebelumnya. Pada penelitian Putra (2010) dosis efektif yang diberikan adalah 0,028 g/Kgbb dan 0,056 g/Kgbb. Untuk itu, agar didapat berat batang *J. multifida* L yang akan diberikan pada mencit secara Gavage dikonversikan sebagai berikut :

1. Dosis efektif 0,028 g/Kgbb

$$\frac{30\text{g}}{1000\text{g}} \times 0,028 \text{ g/Kgbb} = 0,00084\text{g ekstrak batang } J. \text{ multifida L}$$

2. Dosis efektif 0,056 g/Kgbb

$$\frac{30\text{g}}{1000\text{g}} \times 0,056 \text{ g/Kgbb} = 0,00168 \text{ g ekstrak batang } J. \text{ multifida L}$$

3. Dosis efektif 0,084 g/Kgbb

$$\frac{30g}{1000g} \times 0,084 \text{ g/kgbb} = 0,00252 \text{ g ekstrak batang } J. multifida \text{ L}$$

Dalam penelitian ini digunakan juga Prednikson sebagai pembanding dan Imunos sebagai peningkat leukosit. Prednison dan Imunos dikonsumsi oleh orang dewasa sebesar 500mg/50Kgbb sehingga untuk 1 Kg berat badan dapat dihitung sebagai berikut:

$$\frac{1000g}{50000g} \times 0,5 \text{ g} = 0,01 \text{ g/Kgbb}$$

Dosis efektif 0,01 g/Kgbb untuk mencit

$$\frac{30g}{1000g} \times 0,01 \text{ g/Kgbb} = 0,0003g \text{ Prednison}$$

$$\frac{30g}{1000g} \times 0,01 \text{ g/Kgbb} = 0,0003g \text{ Imunos}$$

500 mg Prednikson dan imunos dilarutkan dalam 50 mL aquabides. Jadi, dalam 1 mL Prednikson dan imunos mengandung $\frac{500 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} = 10 \text{ mg}$. Pemberian dosis peroral 0,015 g/30gbb *M. musculus* yakni:

$$\text{Dosis peroral} = \frac{0,0003 \text{ g}}{0,015 \text{ g}} \times 10 \text{ mL} = 0,2 \text{ mL}$$

8. Pemberian Perlakuan

M. musculus yang dinilai sehat yang digunakan dalam percobaan dengan berat badan mencit 30-50 g. Selama pemeliharaan perubahan bobot badan hewan tidak melebihi 10% dan secara visual menunjukkan perilaku normal.

M. musculus diinduksikan Imunos pada perlakuan P1, P2, P3, P4 dan P5. Imunos sebelum digunakan diencerkan terlebih dahulu dengan 50 mL aquabides steril bebas pirogen. Pemberian perlakuan secara oral dilakukan dengan menggunakan jarum *gavage* sebanyak 0,2 mL/ekor. Prinsip kerja jarum *gavage* adalah larutan yang dimasukkan ke dalam mulut mencit secara perlahan-lahan kemudian diluncurkan melalui langit-langit ke belakang sampai esofagus sehingga larutan berakhir di lambung.

M. musculus dipilih sebanyak 30 ekor, kemudian dibagi 6 kelompok masing-masing terdiri dari 5 ekor *M. musculus*. Kelompok 1 (P0) perlakuan dengan pemberian minyak wijen tanpa imunos dan digunakan sebagai kontrol, kelompok 2 (P1) perlakuan dengan pemberian Imunos, kelompok ke 3 (P2) perlakuan dengan pemberian imunos dan Prednikson, kelompok ke 4,5 dan 6 perlakuan dengan pemberian Imunos dan ekstrak *J. multifida* L., masing-masing dengan dosis 0,028 mg/Kgbb dengan berat ekstrak 0,00084 g

(P4) dosis 0,056 g/Kgbb dengan berat ekstrak 0,00168 g (P5) dan (P6) 0,084 g/Kgbb dengan berat ekstrak 0,00252 g. Setelah 24 jam perubahan jumlah leukosit dilihat dan dihitung di bawah mikroskop.

9. Pengambilan Darah

Pengamatan sel leukosit ini dengan menggunakan alat yang dinamakan hemositometer. Alat ini dipakai untuk menghitung jumlah sel darah dan terdiri dari kamar hitung, kaca penutupnya dan dua macam pipet thoma (pipet eritrosit dan pipet leukosit) (Gandasoebrata, 1984).

Adapun cara kerja untuk menghitung jumlah leukosit tersebut yaitu sebagai berikut : ekor mencit dilukai dengan pisau steril sehingga mengeluarkan darah berikutnya dihisap dengan hemositometer sampai batas 0,5 tepat. Ujung pipet dimasukkan dalam larutan *turk* dihisap sampai garis tanda angka 11, kemudian diangkat pipet dari cairan, ditutup ujung pipet dengan ujung jari lalu lepaskan karet penghisap. Dikocok pipet selama 15-30 detik, buanglah semua cairan yang ada segeralah sentuhkan ujung pipet itu dengan sudut 30 derajat pada permukaan kamar hitung dengan menyinggung pinggir kaca penutup. Biarkan kamar hitung terisi cairan perlahan-lahan dengan daya kapilaritasnya sendiri.

Kamar hitung dibiarkan selama 2 atau 3 menit supaya leukosit dapat mengendap. Hitunglah semua leukosit yang terdapat dalam keempat “bidang besar” mulailah menghitung dari sudut kiri atas, terus ke kanan, kemudian turun ke bawah dan dari kanan ke kiri; lalu turun lagi ke bawah dan dimulai lagi dari kiri ke kanan. Terkadang ada sel yang menyinggung garis batas suatu bidang. Sel-sel yang menyinggung garis batas sebelah kiri atau garis atas haruslah dihitung, sebaliknya sel-sel yang menyinggung garis batas sebelah kanan atau bawah tidak boleh dihitung. Perhitungan sel leukosit dirumuskan sebagai berikut:

$$\text{Jumlah Sel Darah Putih (SDP)} = Ne \times 50$$

Keterangan :

Ne : jumlah sel –sel darah putih dalam 4 kotak besar di pinggir.

(Gandasoebrata, 2007)

10. Uji Hipotesis dengan *One Way Anova*

Data yang diperoleh dari hasil uji kuantitatif pada penelitian kemudian dianalisis dengan *One Way Anova* yaitu pengujian hipotesis untuk data interval atau rasio dari k sampel (lebih dari dua sampel) yang berkorelasi dengan satu faktor yang berpengaruh (pemberian ekstrak batang *J. multifida* L.). *One Way Anova* yang digunakan dalam analisis data penelitian adalah *One Way Anova* dengan sampel yang sama banyaknya, dimana

setiap kelompoknya memiliki jumlah atau ukuran sampel yang sama banyaknya (Hasan, 2006).

D. Hasil Penelitian dan Pembahasan

1. Hasil Penelitian

a. Uji Fitokimia

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari uji fitokimia dapat diketahui bahwa batang *J. multifida L* mengandung senyawa metabolit sekunder dari golongan flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Hasil ini sesuai dengan Hariana (2006) yaitu batang *J. multifida L* mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin.

b. Uji Pengaruh Ekstrak Etanol terhadap Leukosit *M. musculus*

Komponen darah *M. musculus* memiliki kesamaan dengan komponen yang terdapat pada manusia hanya berbeda ukuran dari komponen darah tersebut, seperti sel darah merah, plasma darah, sel darah putih dan keping darah (leukosit). *M. musculus* memiliki karakteristik mudah ditangani dan bersifat penakut, fotofobik, cenderung berkumpul dengan sesamanya, bersembunyi dan lebih aktif beraktivitas pada malam hari. *M. musculus* yang digunakan berjenis kelamin jantan, karena *M. musculus* jantan tidak memiliki siklus estrus (seperti siklus menstruasi pada manusia). Perbedaan hormon saat siklus estrus pada *M. musculus* betina dapat mempengaruhi jumlah Leukosit *M. musculus*. Berdasarkan hasil uji aktivitas tersebut diperoleh data hasil perhitungan Leukosit yang disajikan pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Jumlah Leukosit Mencit (*M. musculus*)jantan $10^3/\text{mm}^3$

No.	Perlakuan	$\bar{X} \pm \text{SD (0,05)}$
1.	(PO) Minyak Wijen	9,83 \pm 0,936 bc
2.	(P1) Imunos	16,25 \pm 4,608 a
3.	(P2) Imunos dan Prednikson	8,07 \pm 1,148 c
4.	(P3) Imunos dan Jatropha 0,00084 g	10,23 \pm 2,309 bc
5.	(P4) Imunos dan Jatropha 0,00168 g	7,25 \pm 1,571 c
6.	(P5) Imunos dan Jatropha 0,00252 g	11,54 \pm 3,352 b

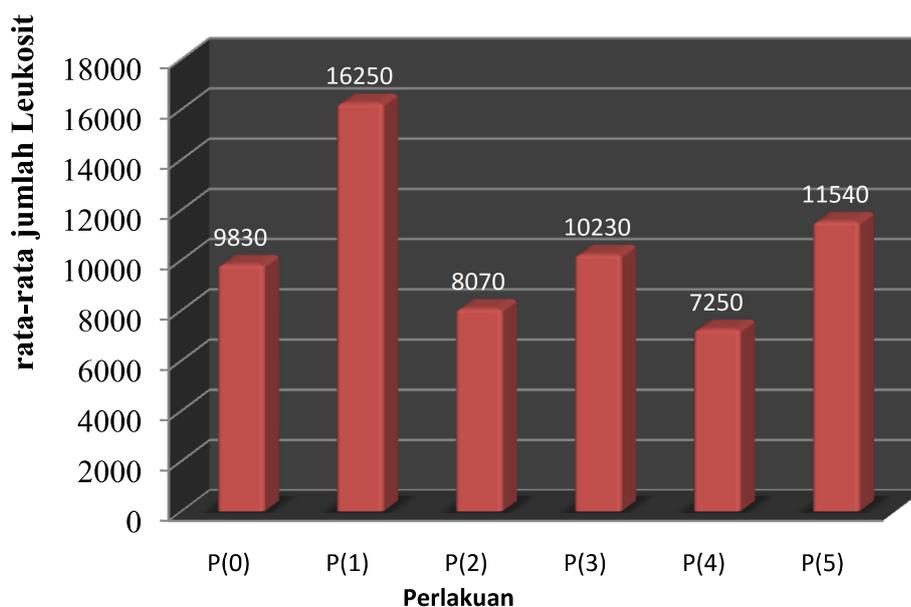
Keterangan : *SD* = Standar Deviasi

Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan

Dari data tabel 2 terlihat bahwa pemberian imunos P(1) dapat meningkatkan sel leukosit di atas kondisi normal (9.976-10.520/ mm^3). Peningkatan leukosit menunjukkan

adanya proses infeksi atau radang akut, dapat juga terjadi leukemia dan stress ataupun gangguan emosi. Sebab ada dugaan jika terjadi infeksi dalam organ tubuh maka jumlah sel leukosit akan meningkat dengan cepat, karena produksi leukosit sudah tidak terkontrol lagi. Pemberian imunos mengaktifkan hormon glikoprotein khusus yang analog dengan eritropoietin yang berfungsi mengarahkan diferensiasi dan proliferasi setiap tipe sel (Soewolo, 2000) Produksi leukosit mempunyai kecepatan yang berbeda-beda tergantung pada perubahan kebutuhan pertahanan dalam tubuh. Semua leukosit pada dasarnya berasal dari sel-sel induk yang belum yang terdiferensiasi (sel-sel batang) yang sama dengan sel induk yang menurunkan eritrosit dan trombosit. Jumlah total leukosit dapat bervariasi secara luas sesuai dengan keadaan fisiologik seperti umur, aktivitas dan keadaan patologis seperti infeksi dan trauma. Leukosit terdapat di dalam darah dan cairan Limfe. Tetapi sering juga terdapat di cairan jaringan (Wulangi,1993).

Terjadinya penurunan leukosit setelah pemberian ekstrak *J. multifida* L., dikarenakan adanya kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak. Senyawa Perlakuan P(2) setelah diberikan prednikson terjadi penurunan sel leukosit sebesar 8.180 mm^3 , P(3), P(4) dan P(5) diberikan ekstrak *J. multifida* L dengan dosis yang berbeda terjadi penurunan sel leukosit yakni, P(3) sebesar 6.020 mm^3 , P(4) sebesar 9.000 mm^3 dan P(5) sebesar 4.710 mm^3 dibandingkan dengan P(1). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 1 berikut.



Gambar 1. Rata-rata Leukosit *M.musculus* setelah Perlakuan

2. Pembahasan

Ekstrak *J. multifida* L terbukti dapat menurunkan leukosit *M. musculus* yang diinduksi Imunos. Untuk ekstrak *J. multifida* L pada dosis 0,028 mg/Kgbb dengan berat ekstrak 0,00084 g terbukti mampu menurunkan leukosit dan mendekati kondisi normal. Adapun pemberian prednikson dapat menurunkan sel leukosit namun di bawah kondisi normal, sehingga pemberian ekstrak *J. multifida* L., untuk dosis 0,028 mg/Kgbb lebih baik dari pada prednison serta merupakan dosis optimum.

Flavonoid ternyata bersifat inhibitor terhadap enzim DNA topoisomerase sel kanker (Andreas, C., et. al. 1995). Enzim tersebut adalah enzim yang berperan dalam proses replikasi, transkripsi dan rekombinasi DNA dan juga proses proliferasi dan diferensiasi sel kanker; enzim ini merupakan target bahan bioaktif tanaman yang memiliki aktivitas antikanker, karena dengan dihambatnya enzim DNA topoisomerase maka proses dalam sel terhenti dan akhirnya Akan terjadi kematian sel tersebut.

Proses aktivitas enzim membutuhkan aktivator untuk meningkatkan laju reaksinya dan membutuhkan inhibitor untuk mengendalikan reaksinya. Aktivator dan inhibitor dapat berupa senyawa organik atau ion logam (Hidayah, 2001). Beberapa hasil penelitian telah diketahui bahwa alkaloid dapat digunakan sebagai inhibitor enzim. Saponin dan Tanin mempunyai efek anti kanker dengan menghambat penyebaran melalui pembuluh darah dengan dalam sel endotel sehingga mencegah pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan (invasi) atau dengan migrasi sel ke tempat yang lebih jauh (metastasis).

Berdasarkan analisis Anova One Way $F_{hitung} (7,22362) > F_{tabel} (3,89507)$, dengan ($\alpha = 0,01$), maka H_0 ditolak dan H_{1b} diterima (ada perbedaan sangat nyata) yang berarti bahwa rata-rata jumlah leukosit *M. musculus* antar perlakuan berbeda sangat nyata setelah diberi ekstrak *J. multifida* L.

E. Kesimpulan

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak *J. multifida* L yakni Flavonoid, Alkaloid, Saponin dan Tanin. Pemberian ekstrak etanol dari batang *J. multifida* L mampu menurunkan jumlah leukosit *M. musculus* jantan yang telah diinduksi Imunos dengan dosis optimum 0,028 g/Kgbb sebesar 10.230/ mm³.

DAFTAR PUSTAKA

- Ayoola, GA., Coker, HAB., Adesegun, SA., Adepoju-Bello, AA., Obaweya, K., Ezennia, EC., and Atangbayila, TO. 2008. *Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria*. Trop J Pharm Res, September 2008; 7(3): 1019-1024, University of Benin.
- Chozin, A 1996. " Uji Brine Shrimp dan Analisa Kandungan Kimia Fraksi Metanol 95% Daun Suren, Tuna Sureni(BI)". *Prosiding Symposium Penelitian Obat Alami VIII. Perhitungan Penelitian Bahan Kimia Alami*. Balitro: Bogor.
- Gandasoebrata, R. 1984. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta: Penerbit Dian Rakyat.
- Hasan, Iqbal. 2006. *Analisis Data Penelitian dengan Statistik*. Jakarta: PT Bumi Aksara.
- Hariana, A. 2006. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Seri pertama. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.
- Hidayah, H. 2001, *Studi Pengaruh Penambahan Ion Mg²⁺ terhadap Aktivitas Enzim Lipase dari Bacillus Megaterium*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Novita, S. Tutik. 2012. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Brotowali (Tinospora Crispa, L.) terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Tikus Putih (Rattus Norvegicus, L.)*. Thesis Universitas Negeri Yogyakarta.
- Pasaribu, Subur S., Marliana, Eva dan Napitupulu, Bobby Sulistiyo. 2008. *Uji Fitokimia, Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Batang Jarak Cina (Jatropha multifida L.)*. Jurnal Kimia. Vol 5(2), Universitas Mulawarman.
- Prihandana, Handoko dan Rio. 2006. *Menghasilkan Biodiesel Murah Mengatasi Polusi dan Kelangkaan BBM*. Agromedia Pustakan: Jakarta.
- Smith, J.B., dan Mangkoewidjojo, S. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Penerbit UI-Press.
- Raaman, N. 2006. *Phytochemical Techniques*. New India Publishing Agency: Pitam Pura.
- Tjindarbumi, D. dan Mangunkusumo. R. 2002. *Cancer in Indonesia, Present amnd future, Jpn.Clin: Oncol*.
- Yuharmen, Eryanti, Y. dan Nurbalatif. 2002. *Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas (Alpinia galang)*. Jurnal Natur. Vol 4(2), Universitas Riau.
- Yunitasari. 2011. *Isolasi dan Uji Senyawa Aktif Batang Jatropha multifida L terhadap Peningkatan Jumlah Trombosit Mus musculus Jantan dan Pengembangan Hasil Penelitian sebagai Sumber Belajar Kimia*. Bengkulu: FKIP Universitas Bengkulu. Thesis.