

AKTIVITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG MENCIT (*Mus musculus L.*) YANG DIINDUKSI EKSTRAK DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D.C.)

Phagocytosis activity of white mice (*Mus musculus L.*) macrophage induced by kaffir lime leaves extract (*Citrus hystrix D.C.*)

Yeni Avidhatul Husnah^{1*}, Nastiti Wijayanti²

¹Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Stikes Prima Indonesia

²Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

E-mail: nastitiw@yahoo.com

ABSTRACT

Kaffir lime (*Citrus hystrix*) is Indonesia native plant. The use of kaffir lime plants still limited to a small portion of spices ingredients and aromatherapy oils for the industry. The compounds of leaves were alkaloids, flavonoids, terpenoids, saponins, polyphenols, tannins, and essential oils that are cytotoxic to cancer cells. The purpose of this research was to determine the effect of cytotoxicity and phagocytosis activity induced by leaves extract of *C. hystrix* on macrophage cells and the potential an immunomodulator. This study includes sampling, extraction with ethanol and methanol, qualitative phytochemical analysis using Thin Layer Chromatography (TLC), a test of cytotoxicity with WST-1 assay, and macrophage cell phagocytosis activity test. TLC test results of methanol and ethanol extract showed that the leaves of *C. hystrix* contain secondary metabolite these are: tannins, terpenes, saponins, and flavonoids. Cytotoxicity test results showed that the IC₅₀ value of the methanol extract of kaffir lime leaves was 0.677 µg / mL and toxic to the macrophage cells. The phagocytosis assay showed that the index value, activity, and phagocytic capacity of macrophages by *C. hystrix* at various dose were lower compared to that of control cells. Methanol extract lime leaves potential yet as an immunomodulator.

Keywords: *Citrus hystrix D. C.*, macrophages, cytotoxicity, WST-1 assay, phagocytic activity

ABSTRAK

Jeruk purut (*Citrus hystrix*) merupakan tanaman asli Indonesia. Selama ini, pemanfaatan tanaman jeruk purut masih terbatas untuk bumbu masak dan sebagian kecil untuk industri minyak aromaterapi. Daun jeruk purut mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, polifenol, tannin, dan minyak atsiri yang bersifat sitotoksik terhadap sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari aktivitas fagositosis sel makrofag mencit oleh ekstrak daun jeruk purut dan potensi ekstrak daun jeruk purut sebagai imunomodulator. Tahapan dalam penelitian ini meliputi sampling daun jeruk purut, ekstraksi dengan ethanol dan methanol, analisis kualitatif fitokimia menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), uji sitotoksitas dengan WST-1 assay, dan uji aktivitas fagositosis sel makrofag. Hasil uji KLT ekstrak ethanol dan methanol menunjukkan kandungan metabolit sekunder yang sama yaitu: tannin, terpen, saponin dan flavonoid dengan nilai racing factor (Rf) yang sama. Hasil uji sitotoksitas menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun jeruk purut memiliki nilai IC₅₀ sebesar 0,677 µg/mL dan bersifat toksik terhadap sel makrofag. Pada hasil uji fagositosis menunjukkan bahwa nilai indeks, aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag pada

berbagai variasi dosis lebih rendah dibandingkan dengan kontrol sel. Ekstrak methanol daun jeruk purut tidak berpotensi sebagai imunomodulator.

Kata kunci : *Citrus hystrix* D. C, sel makrofag, sitotoksitas, WST-1 assay, aktivitas Fagositosis

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang mempunyai banyak keragaman flora. Lebih dari 30.000 spesies tumbuhan telah teridentifikasi, 940 spesies diantaranya merupakan tumbuhan herbal, dan 180 spesies telah dimanfaatkan menjadi jamu tradisional. Jeruk purut (*Citrus hystrix*) merupakan tanaman asli Indonesia, tanaman ini mudah dikultivasi. Di Indonesia, pemanfaatannya masih terbatas untuk industri dan rumah tangga. Beberapa senyawa dalam daun jeruk purut telah diteliti mempunyai manfaat obat. Senyawa tersebut diantaranya alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, polifenol, tannin, dan minyak atsiri (Dalimartha, 2006; Widiyati, 2006; Munawaroh dan Handayani, 2010; Herwandhani dkk., 2011; Aziman *et al.*, 2012). Beberapa senyawa pada tanaman obat tradisional dapat mempengaruhi mekanisme pertahanan tubuh atau sistem imunitas tubuh yang meliputi sistem imun spesifik dan non spesifik (Tizard, 2000). Sistem imun adalah semua mekanisme yang digunakan tubuh untuk melindungi dan mempertahankan keutuhan tubuh dari bahaya yang menyerang tubuh. Tugas dasar sistem imun adalah membedakan seluruh sel di dalam tubuh dengan agen asing (bakteri, virus, toksik, jamur, serta jaringan asing). Sistem imun terdiri dari komponen genetik, molekuler, dan seluler yang berinteraksi secara luas dalam merespon antigen endogenus dan eksogenus (Baratawidjaya, 2009). Pada penelitian sebelumnya, digunakan pelarut ethanol dan methanol sebagai pelarut ekstrak. Pada penelitian ini digunakan ekstrak methanol untuk uji sitotoksitas dan aktivitas fagositosis makrofag mencit. Methanol dipilih sebagai pelarut dikarenakan polaritasnya yang tinggi, sehingga dapat menyaring metabolit yang relatif polar maupun non polar. Daun jeruk purut juga pernah diekstrak menggunakan methanol dan teridentifikasi mengandung triterpenoid yang tinggi (Widiyati, 2006). Belum ada penelitian mengenai potensi senyawa metabolit sekunder pada daun jeruk purut terhadap aktivitas fagositosis makrofag. Penelitian ini menguji potensi daun jeruk purut untuk mengaktifkan fagositosis makrofag mencit.

METODE PENELITIAN

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah oven, mesin giling, kipas angin, *magnetic stirrer*, corong Buchner, waterbath, timbangan semi analitik, plat silika, chamber KLT, lampu UV 254 dan 365 nm, vortex, sentrifus, kamera digital, laminar air flow, inkubator CO₂, spektrofotometer, mikroskop inverted dan mikroskop binokular. Bahan yang digunakan adalah daun jeruk purut, makrofag mencit jantan galur Balb/c usia 2 bulan, ethanol teknis 96% methanol teknis, etil asetat, asam formiat 10%, asam klorida, dietileter, asam sulfat 2N, kloroform, toluen, rutin, quinin, amoniak, fenol, *ferrichloride*, terpenoid, vanillin asam sulfat, anisaldehyd asam sulfat, *dragendorff*, medium RPMI, medium komplet, *tryphan blue*, DMSO, reagen WST-1, *cover slips*, PBS, Giemsa dan akuades.

2. Cara Kerja

a) Pengambilan dan Preparasi Sampel Daun Jeruk Purut

Sampel diperoleh dari kebun jeruk purut di daerah Magelang. Pemetikan daun dilakukan sekitar jam 12.00-14.00 WIB. Daun yang dipilih adalah daun yang tua dengan ciri berwarna hijau gelap dan sehat (tidak ditemukan adanya jamur atau penyakit pada daun). Untuk penyeragaman, daun yang dipetik adalah antara daun ke-5 hingga ke-20 dari pucuk. Daun dibersihkan dengan air lalu dikeringanginkan dan dibungkus kertas koran. Daun dikeringkan sampai diperoleh berat konstan,

selanjutnya daun jeruk purut diblender dan dihaluskan sampai diperoleh serbuk untuk persiapan ekstraksi.

b) Ekstraksi Sampel

Sampel daun jeruk purut dalam bentuk serbuk selanjutnya digunakan untuk ekstraksi. Sebanyak 83,26 gram sampel dilarutkan dalam 600 mL ethanol teknis 96%, dihomogenasi menggunakan *magnetic stirrer* dan ditutup rapat menggunakan kantong plastik dan karet gelang. Setelah dimaserasi selama 24 jam, filtrat disaring, residunya dimaserasi menggunakan etanol teknis 96% dengan cara yang sama. Maserasi diulang sebanyak dua kali. Ekstrak ditampung pada cawan porselen, dikeringkan di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental. Metode ini berdasarkan metode Chueahongthong *et al.* (2011) dengan modifikasi. Ekstrak ethanol dan ekstrak methanol disimpan dalam wadah kecil tertutup rapat dan disimpan dalam kulkas. Ekstrak ini selanjutnya digunakan untuk analisis KLT, uji sitotoksitas, dan aktivitas fagositosis selmakrofag.

c) Analisis Kromatografi Lapis Tipis(KLT)

Sampel dari masing-masing ekstrak kental (ekstrak ethanol dan ekstrak methanol) ditimbang sebanyak 50 mg dalam tabung reaksi. Lima jenis senyawa yang dideteksi secara kualitatif, yaitu flavonoid, alkaloid, terpenoid (minyak atsiri), saponin, dan tanin.

d) Uji Sel Makrofag

Isolasi dan kultur makrofag mencit dilakukan di LPPT UGM. Mencit jantan galur Balb/c SPF umur 2 bulan didapatkan dari Fakultas Farmasi, UGM. Sebelumnya, mencit dieuthanasi kemudian dibedah dan dilakukan injeksi medium komplit (RPMI, 1% Penicilin- Streptomycin, dan fungizon) secara intraperitoneal sebanyak 6 mL. Bagian peritoneal dipijat- pijat dan cairan dihisap kembali menggunakan *syringe* untuk mendapatkan makrofag. Cairan disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm dengan suhu 4 °C selama 10 menit. Bagian pelet diresuspensi dalam medium komplit. Jumlah sel makrofag dihitung dengan *haemocytometer*. Sebanyak 50 µL campuran dimasukkan dalam *microtube* 1,5 mL, ditambah *tryphan blue* 50 µL dan 900 µL medium komplit (untuk pengenceran 20 kali). Campuran kemudian divortex dan diteteskan sebanyak 10 µL pada bilik hitung. Jumlah sel pada 4 bilik luar dihitung. Penghitungan jumlah sel dilakukan di bawah mikroskop, dengan rumus:

$$\text{Jumlah Total Sel} = \frac{\text{I} + \text{II} + \text{III} + \text{IV}}{4} \times 10^4 \times \text{Faktor Pengenceran} \times \text{Volume Stok}$$

e) Uji Sitotoksitas

Uji sitotoksitas dikerjakan dengan WST-1 assay. Makrofag dengan kerapatan 5×10^4 sel/100 µL dikultur dalam mikroplate 96 sumuran. Kelompok pada penelitian ini adalah kontrol negatif (kontrol sel), suspensi makrofag diinkubasi dalam medium komplit tanpa diberi senyawa yang diuji, kontrol medium, hanya berisi medium komplit, kontrol pelarut yaitu suspensi makrofag ditambah dengan medium komplit dan DMSO dengan variasi konsentrasi 0,125%; 0,0625; 0,03125; 0,0078125; 0,0039063; 0,0009766; dan 0,0004883 µg/mL, kelompok perlakuan, terdiri dari seri konsentrasi, 0,4882; 0,9765; 3, 906; 7, 813; 15,625; 31,25; 62,5; dan 125 µg/mL dilakukan dengan cara melarutkan 10 mg *crude extract* daun jeruk purut dalam 1 mL pelarut (25µL DMSO dalam 1 mL medium komplit). Selanjutnya, seri konsentrasi yang telah disiapkan ditambahkan sebanyak 100 µL larutan ekstrak ke dalam setiap sumuran, sesuai dengan desain penelitian. Makrofag diinkubasi pada suhu 37 °C, CO₂ 5% selama semalam. Uji sitotoksitas dilakukan dengan menggunakan metode WST-1 assay. Pada akhir masa inkubasi, medium dibuang kemudian pada tiap-tiap sumuran ditambahkan medium komplit sebanyak 100

μL /sumuran dan WST-1 sebanyak 10 μL /sumuran. Suspensi sel kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C, 5% CO₂ selama 2 jam. Nilai absorbansi (OD) dibaca dengan menggunakan *ELISA reader* dengan panjang gelombang 450 nm. Nilai absorbansi selanjutnya digunakan untuk menghitung persentase sitotoksitas dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ kematian sel} = \frac{(OD \text{ kontrol sel} - OD \text{ kontrol medium}) - (OD \text{ perlakuan} - OD \text{ Perlakuan})}{(OD \text{ kontrol sel} - OD \text{ kontrol medium})} \times 100\%$$

(Palupi, 2013).

f) Uji Fagositosis Makrofag.

Makrofag mencit ditanam dalam 24 *well plate* yang telah diberi *coverslips* dengan kerapatan 5 x 10⁵ sel/ sumuran. Untuk perlakuan digunakan kontrol sel dan variasi konsentrasi perlakuan: 64 IC₅₀; 16 IC₅₀; 2 IC₅₀; IC₅₀; dan 0,5 IC₅₀. Selanjutnya kultur sel diinkubasi selama semalam pada suhu 37 °C, CO₂ 5%. Pada hari perlakuan, ditambahkan ekstrak, namun sebelumnya medium dibuang dulu dengan hati-hati. Medium diganti dengan ekstrak sesuai desain penelitian. Selanjutnya diinkubasi selama 1 jam. Setelah inkubasi selesai, ditambahkan lateks dengan konsentrasi 0,0025% sebanyak 30 μL /sumuran. Lalu sel diinkubasi kembali pada inkubator dengan dicek setiap 15 menit sekali pada mikroskop. Setelah inkubasi 45 menit, selanjutnya dicuci dengan menggunakan PBS sampai tiga kali ulangan, setelah itu dikeringanginkan. Sel difiksasi dengan menggunakan methanol absolut selama 30 detik dan dikeringanginkan selama 10 menit, kemudian diwarnai dengan menggunakan Giemsa selama 20 menit. Selanjutnya dibilas dengan aquades mengalir dan dikeringkan. Preparat dilihat di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 4x10 lensa obyektif. Indeks, aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

Indeks Fagositosis

$$\text{Aktivitas fagositosis (IF)} = \frac{(a) \times (b)}{(c)}$$

Keterangan :

(a) = Rerata jumlah lateks yang difagosit oleh makrofag

(b) = Jumlah makrofag yang memfagosit

(c) = Jumlah makrofag yang diperiksa (Wagner & Jurcic, 1991)

(d) = $\text{Aktivitas fagositosis (\%)} = \frac{\text{jumlah sel makrofag aktif}}{\text{jumlah sel makrofag total}} + 100\%$

Kapasitas fagositosis ditetapkan berdasarkan jumlah lateks yang difagositosis oleh 50 sel fagosit aktif . Data hasil uji sitotoksitas dianalisis dengan *One way ANOVA* dilanjutkan *Tuckey's HSD* test untuk melihat ada tidaknya beda nyata antar perlakuan. *Lethal Concentration* (LC50) ditentukan dengan analisis probit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Analisis Senyawa Ekstrak Daun Jeruk Purut

Proses ekstraksi daun jeruk purut dari 83,26 gram sampel kering diperoleh 3,31 gram *Crude extract*. *Crude extract* inilah yang disebut sebagai ekstrak ethanol daun jeruk purut. Sedangkan pada ekstrak methanol dari 94,74 gram sampel kering diperoleh 3,94 gram *Crude extract*, yang kemudian disebut sebagai ekstrak methanol daun jeruk purut. Hasil uji KLT untuk senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, tannin, dan saponin. ekstrak daun jeruk purut disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisis Kualitatif Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Jeruk Purut

Jenis Ekstrak	Kandungan Fitokimia				
	Alkaloid	Flavonoid	Terpenoid	Tannin	Saponin
Ekstrak Ethanol	-	+	+	+	+
Ekstrak Metanol	-	+	+	+	+

Keterangan: (+): terdeteksi; (-): tidak terdeteksi

Tabel 2. Nilai *Racing factor* (Rf) Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Jeruk Purut

Jenis ekstrak	Kandungan Fitokimia				
	Alkaloid	Saponin	Tannin	Flavonoid	Terpen
Ekstrak Ethanol	-	0,25	0,823	0,842	0,34
	0,50			0,454	
	0,625			0,511	
	0,710				
Standar	-	0,278	0,882	0,6875	0,5
Ekstrak Methanol	-	0,25	0,823	0,842	0,34
	0,50			0,454	
	0,625			0,511	
	0,710				

Berdasarkan Tabel 1, dapat diketahui bahwa kedua jenis ekstrak mengandung senyawa fitokimia yang sama. Ekstrak ethanol dan methanol daun jeruk purut mengandung, flavonoid, terpenoid, tannin, dan saponin. Komposisi senyawa ini tergantung pada kepolaran pelarut yang digunakan. Prinsip kelarutan suatu senyawa berdasarkan pada asas *like dissolves like*, artinya suatu senyawa akan cenderung lebih larut dalam pelarut yang memiliki kepolaran sama. Methanol dipilih sebagai pelarut dikarenakan polaritasnya tinggi, sehingga dapat menyaring metabolit yang relatif polar maupun non polar. Daun jeruk purut juga pernah diekstrak menggunakan methanol dan teridentifikasi mengandung triterpenoid yang tinggi (Widiyati, 2006). Berdasarkan penelitian Aziman *et al.* (2012), ekstrak ethanol daun jeruk purut mengandung alkaloid dan flavonoid. Analisis KLT merupakan metode sederhana untuk pemisahan dan identifikasi senyawa. Nilai Rf menunjukkan jenis senyawa yang terdapat dalam ekstrak. Berdasarkan kedekatan nilai Rf terpenoid, flavonoid, terpen, dan saponin pada Tabel 2., jenis senyawa yang terdapat dalam ekstrak ethanol dan methanol daun jeruk purut adalah sama. Di dalam ekstrak ethanol dan methanol mengandung tiga jenis senyawa saponin, satu jenis senyawa tannin, satu jenis senyawa flavonoid, dan empat jenis senyawa terpen.

B. Sitotoksisitas Ekstrak Daun Jeruk Purut terhadap SelMakrofag

Konsentrasi ekstrak yang diujikan terhadap sel makrofag adalah 0,4882; 0,9765; 3, 906; 7, 813; 31,25; 62,5; dan 125 µg/mL. Kontrol sel berfungsi sebagai pembandingan antara sel normal dengan sel yang diberi perlakuan ekstrak. Kontrol pelarut berfungsi untuk mengetahui pengaruh pelarut terhadap sel normal. Uji toksisitas mencakup dua hal, yaitu untuk mengetahui efek yang ditimbulkan dan tingkat paparan (dosis) pada efek yang diamati. Uji sitotoksisitas merupakan uji pendahuluan yang dapat digunakan untuk mencari konsentrasi aman suatu senyawa, secara umum digunakan untuk mengetahui aktivitas biologi seperti efek viabilitas dan fungsi senyawa uji pada sel sasaran (Ekwall *et al.*, 1990; Mothersill dan Austin, 2003; Nuffield Council on Bioethics,2013).

Tabel 3. Persentase kematian sel makrofag oleh ekstrak methanol daun jeruk purut

Konsentrasi senyawa uji ($\mu\text{g/mL}$)	Rerata persentase (%) kematian sel
125	100 ^a
62,5	100 ^a
31,25	100 ^a
7,8125	100 ^a
3,906	77,16 ^b
0,9765	61,21 ^b
0,4882	44,05 ^b

Berdasarkan Tabel 3, dapat diketahui bahwa perlakuan ekstrak 3,906; 0,9765; dan 0,4882 $\mu\text{g/mL}$ berbeda nyata terhadap konsentrasi tertinggi yaitu 125 $\mu\text{g/mL}$. Pada konsentrasi tertinggi (125 $\mu\text{g/mL}$) sampai pada konsentrasi 7,8125 $\mu\text{g/mL}$ sel makrofag mengalami kematian sebesar 100 %. Berdasarkan perhitungan statistik diketahui IC₅₀ ekstrak methanol daun jeruk purut pada sel makrofag adalah 0,677 $\mu\text{g/mL}$. Pada penelitian ini, diketahui bahwa ekstrak methanol daun jeruk purut memberikan efek sitotoksik pada sel makrofag mencit. Sejauh ini, belum ada referensi yang menjelaskan mengenai efek sitotoksik yang ditimbulkan oleh ekstrak daun jeruk purut (*Crude extract*) terhadap sel makrofag.

C. Indeks, Aktivitas, dan Kapasitas Fagositosis Makrofag

Sel makrofag diaktivasi dengan ekstrak methanol daun jeruk purut dengan konsentrasi : 64 IC₅₀; 16 IC₅₀; 2 IC₅₀; IC₅₀; dan 0,5 IC₅₀. Pemilihan konsentrasi berdasarkan hasil IC₅₀, dan dilihat perbandingannya dari konsentrasi rendah (0,5 IC₅₀ sampai tertinggi yaitu 2 IC₅₀). Makrofag aktif diberi perlakuan dengan *lateks beads* untuk melihat indeks fagositosisnya. *Lateks beads* dipilih sebagai partikel dikarenakan bentuknya homogen dan sangat jelas terlihat pada hasil pewarnaan menggunakan giemsa. Sel yang telah diwarnai akan berwarna merah keunguan terdiri atas vakuola dan inti sel. Inti sel lebih menyerap warna sehingga warnanya lebih pekat daripada vakuola. Sel berbentuk bulat jika dalam keadaan dorman dan berbentuk tidak beraturan jika dalam keadaan aktif. *Lateks beads* akan berwarna lebih pekat dan mengkilap (Ellis, 2007).



Gambar 1. Morfologi sel makrofag pada mikroskop perbesaran 4x10 lensa obyektif. Keterangan 1: Inti sel, 2: Vakuola, dan 3: Lateks.

Hasil perhitungan indeks fagosit makrofag setelah pemberian ekstrak methanol daun jeruk purut disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai indeks fagositosis sel makrofag oleh ekstrak methanol daun jeruk purut.

Perlakuan	Indeks fagositosis
Kontrol sel	2,045
64IC ₅₀ (43,328 $\mu\text{g/mL}$)	1,64
16 IC ₅₀ (10,832 $\mu\text{g/mL}$)	1,76
2IC ₅₀ (1,354 $\mu\text{g/mL}$)	1,84
IC ₅₀ (0,677 $\mu\text{g/mL}$)	1,48
0,5 IC ₅₀ (0,3385 $\mu\text{g/mL}$)	1,295

Berdasarkan Tabel 4, menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak methanol daun jeruk purut dari konsentrasi tertinggi hingga terendah menunjukkan nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol sel. Soemardji, *dkk.*, 2005 dalam penelitiannya menyatakan nilai indeks fagositosis (K): <1,2 tidak berefek imunomodulator atau bersifat immunosupresif; 1,3 -1,5 berefek imunomodulator sedang; >1,5 berefek imunomodulator kuat. Hasil yang diperoleh bahwa pemberian ekstrak methanol daun jeruk purut dengan berbagai dosis tidak dapat meningkatkan kemampuan fagositosis dari sel makrofag. Hal ini terlihat dari nilai indeks fagositosis yang merupakan perbandingan antara kelompok uji dengan kontrol negatif yang semakin tinggi.

Tabel 5. Hasil persentase aktivitas fagositosis sel makrofag oleh ekstrak methanol daun jeruk purut.

Perlakuan	Aktivitas fagositosis (%)
Kontrol sel	66
64IC ₅₀ (43,328 µg/mL)	64
16IC ₅₀ (10,832 µg/mL)	66,5
2IC ₅₀ (1,354 µg/mL)	63,5
IC ₅₀ (0,677 µg/mL)	63,5
0,5IC ₅₀ (0,3385 µg/mL)	58,5

Berdasarkan Tabel 5, menunjukkan bahwa antara perlakuan yang diberikan senyawa uji dengan berbagai konsentrasi memiliki hasil persentase aktivitas fagositosis makrofag yang tidak berbeda jauh dengan kontrol sel. Kontrol sel memiliki persentase aktivitas fagositosis sebesar 66%, konsentrasi 0,3385 µg/mL (0,5 IC₅₀) memiliki persentase aktivitas fagositosis sebesar 58,5%. Pada hasil menunjukkan bahwa kenaikan konsentrasi tidak meningkatkan aktifitas fagositosis dari sel makrofag.

Tabel 6. Hasil persentase kapasitas fagositosis sel makrofag oleh ekstrak methanol daun jeruk purut.

Perlakuan	Kapasitas fagositosis (%)
Kontrol sel	154
64IC ₅₀ (43,328 µg/mL)	128
16 IC ₅₀ (10,832 µg/mL)	132
2IC ₅₀ (1,354 µg/mL)	141
IC ₅₀ (0,677 µg/mL)	116
0,5IC ₅₀ (0,3385 µg/mL)	111

Berdasarkan Tabel 6, menunjukkan bahwa kapasitas fagositosis pada senyawa uji memiliki persentase yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol sel. Pada kontrol sel memiliki kapasitas fagositosis cenderung tinggi dibandingkan dengan semua konsentrasi senyawa uji, yaitu 154 %. Pada perlakuan ekstrak daun jeruk purut dengan konsentrasi 0,3385 – 1,354 µg/mL memiliki nilai kapasitas fagositosis rendah dibandingkan dengan kontrol sel. Secara umum, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sel makrofag mencit yang diinduksi oleh ekstrak methanol daun jeruk purut tidak berpotensi untuk meningkatkan aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag.

SIMPULAN

Ekstrak methanol daun jeruk purut tidak dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag mencit (*Mus musculus* L.). Ekstrak methanol daun jeruk purut tidak memiliki potensi sebagai imunomodulator.

DAFTAR PUSTAKA

Aziman, N., N. Abdullah, Z.M. Noor, K.S. Zulkifli, and W.S.S.D. Kamarudin. 2012. Phytochemical Constituen and *In Vitro* Bioactivity of Ethanolic Aromatic Herb Extracts

- (Kandungan Fitokimia dan Bioaktivitas *In Vitro* Etanol Ekstrak Aromatik Herba). *Sains Malaysiana*. 41(11):1437-1444.
- Baratawidjaja, K. 2009. *Imunologi Dasar*, Ed. IV, Fakultas kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Chueahongthong, F., C. Ampasavate, S. Okonogi, S. Tima, and S. Anuchapreeda. 2011. Cytotoxic effects of crude kaffir lime (*Citrus hystrix*, DC.) leaf fractional extracts on leukemic cell lines. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(14): 3097-3105.
- Dalimartha, S. 2006. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia II. Niaga Swadaya. Jakarta. P:93-94.
- Ekwall, B., V. Silano, A. P. Stamatii, and F. Zucco. 1990. *Toxicity Test with Mammalian Cell Cultures*.
http://dqe.stanford.edu/SCOPE/SCOPE41/SCOPE_41_2.02_Chapter_7_75-98.pdf (diakses pada 2 April 2014).
- Ellis, R., 2007, *Giemsa's Staining Protocol for Tissue Sections*, IMVS Division of Pathology Queen Elizabeth Hospital.
- Herwandhani, P., S. Nagadi, dan I. A. Saktiningtyas. 2011. Potensi Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) sebagai Agen Imunomodulator yang Prospektif pada Penekanan Efek Imunosupresikemoter. *Jurnal Saintifika Gajah Mada*. III(2).
- Lotze, M. T. and A. W. Thomson. 2005. *Measuring Immunity: Basic Science and Clinical Practice*. Elsevier Academic Press. Great Britain, p:345-346.
- Martini, F. H., M. J. Timmons., and R. B. Tallitsch. 2006. *Human Anatomy*. Benjamin Cumming. USA, p: 534.
- Mothersill, C. and B. Austin. 2003. *In Vitro Methods in Aquatic Toxicology*. Springer.German, pp: 144-147.
- Munawaroh, S. dan A. Handayani. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C.) dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik*. 1(2):73-78.
- Nuffield Council on Bioethics. 2013. *Animal Use in Toxicity Studies*.
<http://www.nuffieldbioethics.org/sites/default/files/files/Animals%20Chapter%209%20Animal%20Use%20in%20Toxicity%20Studies.pdf> (diakses pada 2 April 2014).
- Palupi, N. S. 2013. *Evaluasi Komponen Bioaktif Tanaman untuk Kesehatan*.
<http://seafast.ipb.ac.id/tpcproject/wpcontent/uploads/2013/02/MODULTPCEvaluasiKomponenBioaktif.pdf> (diakses pada 14 Maret 2014).
- Soemardji, A., Immaculatawo, dan I., Joseph., 2005. *Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.)* ITB. Bandung.
- Tizard, 2000. *Veterinary Immunology An Introduction*. Sixth Edition. WB Saunders Company. Harcourt Health Sciences Company. Philadelphia, Pennsylvania.
- Turksen, K. 2006. *Embryonic Stem Cell Protocols: Isolation and Characterization*. Huwana Press. New Jersey, p: 130.
- Wagner, H. and K.Jurcic.1991. Assay for immunomodulation and effect on mediators of inflammation dalam Dey PM and Harborne JB editor. *Methods in plants biochemistry; assay for bioactivity*, Vol. VI, Academic Press.
- Widiyati, E. 2006. Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid Dan Uji Aktivitas Biologis Pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu. *Jurnal Gradien*. 2(1):116-12