



PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

**TOKSISITAS, KEMAMPUAN IMUNOMODULATOR, DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN DAUN TAPAK DARA (*Catharanthus roseus*) PADA SEL
LIMFOSIT MANUSIA SECARA *IN VITRO***

BIDANG KEGIATAN :

PKM Artikel Ilmiah

Diusulkan oleh :

| | |
|----------------------|------------------|
| Leonardus Adi Wijaya | F24051029 / 2005 |
| Kamalita Pertiwi | F24052300 / 2005 |
| Stefanus | F24061524 / 2006 |

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2009**

HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Kegiatan : **TOKSISITAS, KEMAMPUAN IMUNOMODULATOR,
DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN TAPAK
DARA (*Catharanthus roseus*) PADA SEL LIMFOSIT
MANUSIA SECARA IN VITRO**

1. Bidang Kegiatan : (X) PKM-AI () PKM-GT

2. Ketua Pelaksana Kegiatan

3. Anggota Pelaksana Kegiatan/Penulis : 3 orang

4. Dosen Pendamping

Menyetujui,
Sekretaris Departemen

Dr. Nurheni Sri Palupi, MSi.
NIP. 131.681.402

Wakil Rektor
Bidang Akademik dan Kemahasiswaan

Prof.Dr.Ir.H. Yonny Koesmaryono, MS.
NIP. 131.473.999

Bogor, 26 Maret 2009

Ketua Pelaksana Kegiatan

Leonardus Adi Wijaya
NIM. F24051029

Dosen Pendamping

Prof. Dr. Ir. Fransiska
Rungkat Zakaria, M.Sc
NIP. 130.813.79

**TOKSISITAS, KEMAMPUAN IMUNOMODULATOR, DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN DAUN TAPAK DARA (*Catharanthus roseus*) PADA SEL
LIMFOSIT MANUSIA SECARA *IN VITRO***

Leonardus Adi Wijaya, Kamalita Pertiwi, Stefanus

Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

ABSTRAK

*Daun tapak dara (*Catharanthus roseus*) merupakan komoditi lokal dengan berbagai manfaat baik sebagai antioksidan maupun antikanker. Potensi yang begitu besar ini dapat dimanfaatkan lebih lanjut sebagai pangan fungsional. Namun, untuk menuju ke arah tersebut perlu dilakukan uji toksisitas mengingat penggunaan daun tapak dara yang lebih sering digunakan sebagai obat. Penelitian toksisitas kali ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode proliferasi limfosit yang dapat menggambarkan respon imun, toksisitas, dan kemampuan antioksidan suatu komponen (dengan penambahan oksidator H_2O_2). Hasil uji proliferasi limfosit menunjukkan bahwa daun tapak dara tidak toksik dan memiliki kemampuan imunomodulator pada semua sampel ekstrak yang diujikan. Perhitungan indeks stimulasi menunjukkan semua ekstrak daun tapak dara dapat secara efektif membantu proliferasi sel limfosit (imunomodulasi) hingga pengenceran $1/8$. Ekstrak daun tapak dara kering menggunakan aquades merupakan ekstrak yang paling baik untuk membantu terjadinya proliferasi sel limfosit. Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan dengan penambahan H_2O_2 , ke empat ekstrak daun tapak dara terbukti dapat melindungi sel limfosit dari terjadinya oksidasi. Ekstrak daun tapak dara kering menggunakan etanol 96 % menunjukkan perlindungan yang paling baik terhadap sel limfosit dari oksidator H_2O_2 .*

Kata Kunci : Tapak dara, toksisitas, antioksidan, proliferasi, imunomodulator.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Tapak dara (*Catharanthus roseus*) telah digunakan oleh masyarakat tradisional sebagai obat sejak dahulu kala. Tumbuhan ini memiliki efek farmakologi dan dapat diminum sebagai jamu dengan merebus daunnya (1).

Tanaman ini telah dikenal selama berabad-abad sebagai obat untuk diabetes di Eropa. Di Hawaii, tanaman ini direbus untuk dibuat *poultice* (tuam) dan digunakan sebagai penghenti pendarahan. Penduduk Karibia biasa menggunakan ekstrak bunganya untuk membuat larutan pereda iritasi mata dan infeksi.

Berdasarkan beberapa penelitian yang pernah dilakukan, ekstrak tapak dara dapat digunakan sebagai anti kanker dalam percobaan secara *in vivo* dalam tubuh tikus (2). Selain itu, jus daun tapak dara terbukti mampu menurunkan total kolesterol, total trigliserida, LDL, dan VLDL pada tikus. Penurunan ini terjadi secara signifikan pada dosis 1.0 ml/kg (3). Lebih lanjut, diketahui bahwa ada lebih dari 70 macam alkaloid yang ditemukan di akar, batang, daun dan biji tapak dara, termasuk 28 bi-indole alkaloid. Alkaloid yang diketahui memiliki sifat sebagai antikanker adalah vinblastine (VLB), vincristine (VCR), leurosine (VLR), vincadioline, leurosidine, dan catharantine. Sedangkan alkaloid yang memiliki sifat sebagai penurun gula darah yaitu leurosine, catharantine, lochnerine, tetrahyroalstonine, vindoline, dan vindolinine (4). Salah satu alkaloid di atas, yakni vindoline, berbentuk metil ester dari asam karboksilat aspidos-permidin (1). Selain itu ada pula reserpine dan serpentine yang merupakan obat penenang yang kuat.

Meskipun beberapa data ilmiah sudah menunjukkan khasiat dari tanaman tapak dara namun, perlu dilakukan penelitian mengenai toksisitasnya agar dapat dimanfaatkan lebih lanjut (5). Uji toksisitas, imunomodulator, dan antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan sel limfosit manusia secara *in vitro* yang merupakan indikator kualitas respon imun (6). Pendekatan *in vitro* (kultur sel) yang digunakan menyerupai kondisi pada tubuh manusia sehingga dapat dijadikan landasan dan tolak ukur untuk mengetahui dampak atau pengaruh yang terjadi di dalam tubuh manusia.

Rumusan Masalah

Uji toksistas penting untuk dilakukan bila tanaman tapak dara ingin dimanfaatkan lebih lanjut sebagai pangan fungsional, campuran maupun *ingredient* pangan mengingat tapak dara lebih sering digunakan sebagai obat. Lebih lanjut, penelitian ini ditujukan untuk menjawab masalah-masalah sebagai berikut : Apakah daun tapak dara bersifat toksik pada sel darah manusia? Apakah daun tapak dara dapat berfungsi sebagai imunomodulator? dan Apakah daun tapak dara memiliki aktivitas antioksidan?

Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat toksisitas, aktivitas imunomodulasi, dan aktivitas antioksidan dari tanaman tapak dara. Penelitian ini juga bermanfaat sebagai artikel yang mengandung informasi ilmiah mengenai tingkat toksisitas, imunomodulator, dan aktivitas antioksidan dari daun tapak dara sehingga dapat dikembangkan menjadi produk komersial dimasa depan.

BAHAN DAN METODE

Bahan utama yang digunakan adalah daun tapak dara (*Catharanthus roseus*) yang masih segar dan daun yang telah dikeringkan. Bahan kimia yang dipakai untuk ekstraksi adalah etanol 96% dan aquades. Untuk isolasi limfosit digunakan darah manusia. Bahan kimia yang dipakai adalah histopaque RPMI-1640, antibiotik gentamycin, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) dan HCl-isopropanol 0.04N, NaHCO₃ anhidrous, EDTA 0.1%, aquabides, serum, larutan LPS dan Con A, larutan HPO₃ 2%, larutan H₂O₂ 3%, biru trifan 4%, dan serum AB manusia.

Alat khusus yang digunakan adalah sentrifus, mikropipet, hemasitometer, tabung *vacutainer*, *well* (sumur) datar, autotoklaf, *shaker*, *rotavapor*, ELISA reader, spektrofometer, membran sterilisasi, *laminar hood* steril dan inkubator 37°C dengan atmosfer 5% CO₂, O₂ 95% dan RH 96%.

Metode pelaksanaan meliputi ekstraksi daun tapak dara, isolasi sel limfosit, pengujian ekstrak terhadap proliferasi sel limfosit, dan pengujian aktivitas antioksidan dengan penambahan H₂O₂. Penelitian ini dilakukan pada Januari – April 2007 di Laboratorium Biokimia Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, IPB.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan dua jenis pelarut yaitu aquades dan etanol 96 %. Pada ekstraksi menggunakan aquades, sebanyak 20 g daun tapak dara segar dan kering yang telah dibersihkan, ditambahkan dengan aquades hingga perbandingannya 1:10, dan diblender hingga halus. Campuran kemudian dipanaskan pada suhu 80°C selama 10 menit dan disaring menggunakan kain saring. Hasil penyaringan kemudian disentrifuse 2000 rpm selama 5 menit. Supernatannya diambil dan dipanaskan hingga larutan menjadi pekat (\pm 10 ml).

Pada ekstraksi menggunakan etanol 96 %, sebanyak 20 gram daun tapak dara segar dan kering yang telah dibersihkan, diblender kering, dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml, dan ditambahkan etanol 96 % hingga perbandingan 1:10. Campuran dimaserasi pada shaker selama 24 jam dengan kecepatan 35 rpm. Setelah selesai, campuran disaring menggunakan pompa vakum dengan kertas saring Whatman nomor 1. Filtratnya kemudian dihilangkan pelarutnya menggunakan *rotavapor*. Masing-masing ekstrak awal yang didapatkan kemudian diencerkan dengan menggunakan pengenceran bertingkat sehingga didapatkan 5 tingkat konsentrasi, yaitu konsentrasi 1, 1/2, 1/4, 1/8, dan 1/16 kali dari konsentrasi awal yang kemudian akan digunakan pada penelitian.

Isolasi Sel Limfosit (6)

Sebanyak 50 ml darah diambil menggunakan *vacutainer* steril yang telah diberi EDTA 0.1% agar darah tidak menggumpal. Darah yang telah dikumpulkan kemudian disentrifuse selama 10 menit 1500 rpm. Bagian darah yang lebih berat (sel darah merah) akan berada di bawah dan plasma akan berada pada bagian atas. Di antara lapisan sel darah merah dan plasma terdapat lapisan *buffycoat* yang berisi sel-sel limfosit. Lapisan *buffycoat* diambil dengan menggunakan pipet

pasteur dan dilanjutkan dengan pemisahan sel limfosit menggunakan *Histopaque* (*buffycoat* : *Histopaque* = 1:1). Kedua lapisan yang terbentuk kemudian disentrifuse 2500 rpm selama 30 menit. Sel-sel limfosit, monosit dan platelet berada pada bagian atas tabung sentrifuse. Sel-sel limfosit kemudian dicuci menggunakan sentrifuse setelah dicampur kembali dengan media RPMI standar sebanyak 5 ml, selama 5 menit 1500 rpm. Pencucian dilakukan 2 kali, sehingga limfosit terpisah dari platelet, monosit, plasma, dan *Histopaque*. Sebelum digunakan, sel limfosit terlebih dahulu dihitung dan ditepatkan jumlahnya menggunakan hemasitometer hingga mencapai 10^6 sel/ml.

$$N = A \times FP \times 10^4 \text{ sel / ml}$$

Keterangan : N = jumlah sel limfosit / ml

A = jumlah sel hidup rata-rata per bidang pandang

Pengujian Ekstrak terhadap Proliferasi Limfosit (7)

Suspensi sel (10^6 sel/ml) mengandung 10 % serum AB manusia dari jumlah suspensi sel, dimasukkan sebanyak 80 μ l ke dalam tiap sumur. Untuk kontrol standar, sumur hanya berisi media dan sel, sedangkan untuk kontrol positif ditambahkan larutan mitogen Con A 10 μ g/ml sebanyak 20 μ l dan LPS 10 μ g/ml sebanyak 20 μ l. Semua kontrol dibuat triplo. Untuk pengujian, ekstrak ditambahkan sebanyak 20 μ l ke dalam sumur untuk tiap-tiap konsentrasi secara triplo. Kultur diinkubasi pada suhu 37°C dengan atmosfer 5% CO₂, O₂ 95% dan RH 96% selama 72 jam. Empat jam sebelum masa inkubasi berakhir kultur ditambahkan dengan 10 μ l larutan MTT 0.5%.

Setelah masa inkubasi berakhir, 100 μ l HCl-isopropanol 0.04 N ditambahkan pada setiap sumur dan diukur absorbansinya menggunakan ELISA reader pada λ 570 nm. Nilai OD hasil pembacaan menggunakan ELISA reader bersifat proporsional terhadap jumlah sel yang hidup. Pengujian Indeks Stimulasi (I.S) dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$I.S. = \frac{\text{OD yang distimulasi dengan ekstrak}}{\text{OD pada kontrol standar}}$$

$$\text{Persentase kenaikan} = (I.S - 1) \times 100\%$$

Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Penambahan H₂O₂

Pengujian ini mengikuti prinsip pengujian menurut Dewi (8) dengan beberapa perubahan. Suspensi sel (10^6 sel/ml) mengandung 10 % serum AB manusia dari jumlah suspensi sel, dimasukkan ke dalam tiap sumur sebanyak 80 μ l, dan ekstrak sebanyak 20 μ l ke dalam sumur untuk tiap-tiap konsentrasi secara triplo, serta ditambahkan 10 μ l H₂O₂. Untuk kontrol negatif, sumur berisi media dan sel limfosit yang ditambahkan 10 μ l H₂O₂ sedangkan untuk kontrol positif, sumur hanya berisi media dan sel limfosit. Kultur diinkubasi pada suhu 37°C

dengan atmosfer 5% CO₂, O₂ 95% dan RH 96%, selama 7 jam. Enam jam sebelum masa inkubasi berakhir kultur ditambahkan dengan 10 µl larutan MTT 0.5% (dilarutkan dalam RPMI).

Setelah masa inkubasi berakhir, 10 µl HCl-isopropanol 0.04 N ditambahkan pada setiap sumur dan diukur absorbansinya menggunakan ELISA reader pada λ 570 nm. Nilai OD hasil pembacaan menggunakan ELISA reader bersifat proporsional terhadap jumlah sel yang hidup. Indeks Stimulasi (I.S) dihitung dengan menggunakan persamaan seperti pada metode pengujian ekstrak terhadap proliferasi limfosit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Rendemen daun tapak dara yang diperoleh dari proses ekstraksi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rendemen Daun Tapak Dara setelah Proses Ekstraksi

| Jenis Ekstrak | Berat Daun | Volume Akhir | (%b/v) |
|---------------------|------------|--------------|--------|
| Aquades Daun Segar | 9.2716 g | 10 ml | 0.9272 |
| Aquades Daun Kering | 8.682 g | 8 ml | 1.0853 |
| Etanol Daun Segar | 11.3200 g | 14 ml | 0.8086 |
| Etanol Daun Kering | 4.7582 g | 6 ml | 0.7930 |

Masing-masing perlakuan ekstrak lalu diencerkan menjadi 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 kali untuk kemudian dianalisis lebih lanjut.

Pengujian Ekstrak terhadap Proliferasi Limfosit

Proliferasi adalah proses perbanyakan sel melalui pembelahan sel atau mitosis sebagai respon terhadap mitogen. Proliferasi merupakan fungsi dasar biologis limfosit dan respon stimulasi secara *in vitro* dapat menggambarkan fungsi limfosit. Aktivitas sel T dan B yang berproliferasi ini dapat diukur melalui indeks stimulasi (9).

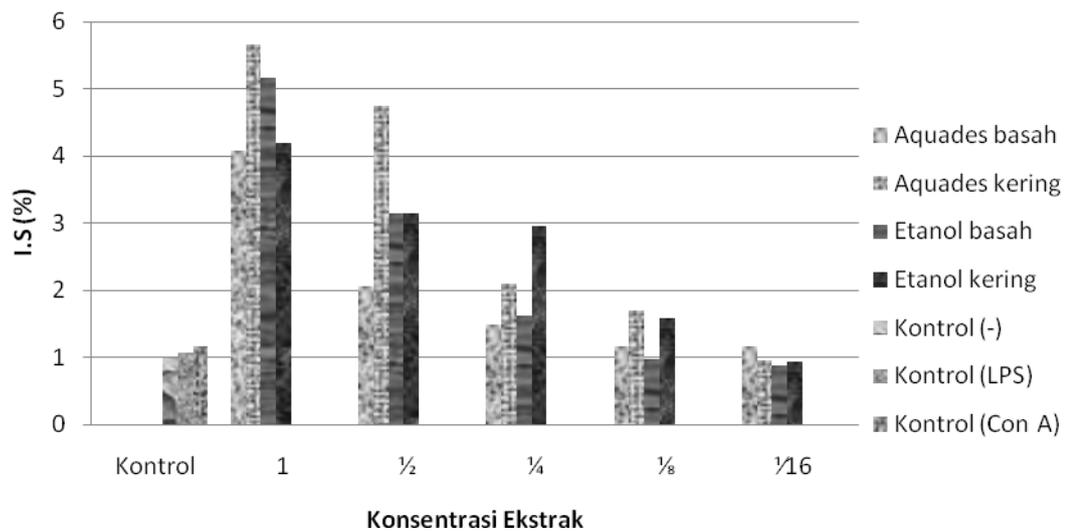
Mitogen yang digunakan pada penelitian ini adalah Concanavalin A (Con A) dan Lipopolisakarida (LPS). Pemilihan kedua jenis mitogen tersebut didasarkan pada kemampuan spesifik dari mitogen yang mampu menginduksi pembelahan sel T dan sel B. Con A adalah protein yang berasal dari bibit *jack bean* (*Canavalia ensiformis*) yang terkait dengan gula α -D-nabisa atau D-glukosa (10). LPS yang digunakan berasal dari dinding sel bakteri gram negatif *Salmonella typhi*.

Tabel 3. Indeks Stimulasi Proliferasi Sel Limfosit Manusia Ekstrak Aquades dan Etanol Daun Tapak Dara

| Jenis Ekstrak | Konsentrasi | | | | |
|---------------------|-------------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
| Aquades Daun Segar | 4.078 | 2.059 | 1.491 | 1.164 | 1.164 |
| Aquades Daun Kering | 5.653 | 4.747 | 2.094 | 1.697 | 0.958 |
| Etanol Daun Segar | 5.164 | 3.139 | 1.613 | 0.982 | 0.870 |
| Etanol Daun Kering | 4.188 | 3.149 | 2.948 | 1.585 | 0.942 |

Keterangan : Indeks Stimulasi LPS : 1.076

Indeks Stimulasi Con A : 1.15



Gambar 1. Grafik Indeks Stimulasi Proliferasi Sel Limfosit Manusia Ekstrak Aquades dan Etanol Daun Tapak Dara

Hasil perhitungan indeks stimulasi proliferasi sel limfosit manusia dapat dilihat pada Gambar 1. Jumlah sel limfosit semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak menunjukkan bahwa keempat jenis ekstrak tidak bersifat toksik. Apabila ekstrak tersebut bersifat toksik maka dengan meningkatnya konsentrasi maka jumlah sel limfosit yang tumbuh akan semakin menurun. Hal ini sesuai dengan Zakaria *et al.* (9), yang menyatakan bahwa suatu komponen dapat dikatakan tidak toksik bila dapat memacu pertumbuhan atau proliferasi sel limfosit.

Terjadinya peningkatan jumlah sel pada konsentrasi yang semakin meningkat juga mengindikasikan bahwa di dalam keempat ekstrak terdapat komponen yang dapat meningkatkan proliferasi limfosit sehingga dapat membantu terbentuknya imunitas dan meningkatkan daya tahan tubuh (6). Dari keempat ekstrak, ekstrak aquades daun kering pada konsentrasi 1 merupakan ekstrak yang paling baik menunjukkan proliferasi limfosit, bahkan daya proliferasinya lebih baik dibandingkan dengan proliferasi limfosit dengan menggunakan LPS dan Con A yang merupakan mitogen yang biasa digunakan untuk meningkatkan daya proliferasi limfosit. Hal ini dimungkinkan bila dilihat dari tingginya aktivitas antioksidan ekstrak aquades daun tapak dara kering pada uji selanjutnya.

Tingginya aktivitas antioksidan membuat sel limfosit terlindungi dari oksidasi sehingga dapat mencegah terjadinya pelisisan sel. Selain itu, adanya komponen aktif yang turut terekstrak juga dapat membantu terjadinya proliferasi sel darah putih. Berdasarkan data-data diatas maka dapat dikatakan pula bahwa metode ekstraksi menggunakan pelarut aquades pada daun kering merupakan metode ekstraksi yang paling baik untuk mendapatkan kemampuan imunomodulator dari daun tapak dara.

Peningkatan proliferasi sel limfosit pada ekstrak etanol lebih rendah jika dibandingkan dengan ekstrak aquades. Menurut Lee *et al.* (11) hal ini disebabkan adanya komponen polar dan semi polar yang ikut terekstrak dan turut mempengaruhi proliferasi sel limfosit. Dalam penelitian ini untuk mengetahui komponen polar maupun semipolar pada ekstrak etanol daun tapak dara kering yang mempengaruhi proliferasi sel limfosit perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Secara umum, jika dilihat pada Gambar 1, semua ekstrak dapat secara efektif memacu terjadinya proliferasi sel limfosit hingga pada konsentrasi $1/8$.

Pangan nabati seperti sayuran dan buah-buahan sebagai imunomodulator telah diteliti pada subjek manusia di kota bogor. Dilaporkan bahwa konsumsi buah dan sayuran menaikkan aktivitas proliferasi limfosit (9). Cincau, coklat, kumis kucing, susu suplemen isoflavon kedelai, sebagai antioksidan dan imunomodulator, dengan metode uji yang sama.

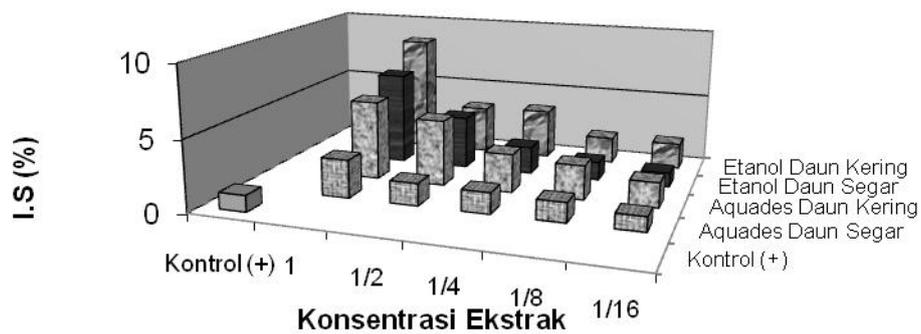
Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Penambahan H₂O₂

Menurut Younkin *et al.* (12) H₂O₂ merupakan oksidator yang dapat menginduksi terjadinya pelisisan sel. H₂O₂ menginduksi terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel sehingga menyebabkan reaksi berantai peroksidasi pada membran sel yang akhirnya menyebabkan pelisisan sel. Namun, pelisisan sel dapat dicegah dengan adanya komponen *free radical scavenger* atau antioksidan (13). Komponen tersebut dapat melindungi terjadinya peroksidasi lipid yang diakibatkan oleh oksidator H₂O₂. Selain itu, aktivitas antioksidan yang ideal adalah aktivitas yang dapat mencegah oksidasi sistem biologis hidup. Prinsip inilah yang digunakan dalam percobaan untuk menentukan aktivitas antioksidan daun tapak dara secara *in vitro*.

Tabel 4. Indeks Stimulasi Proliferasi Sel Limfosit Pada Kultur yang Ditambahkan Oksidator (H₂O₂)

| Jenis Ekstrak | Konsentrasi | | | | |
|---------------------|-------------|-------|-------|-------|--------|
| | 1 | $1/2$ | $1/4$ | $1/8$ | $1/16$ |
| Aquades Daun Segar | 2.689 | 1.571 | 1.483 | 1.377 | 1.029 |
| Aquades Daun Kering | 5.627 | 4.686 | 2.723 | 2.419 | 1.755 |
| Etanol Daun Segar | 6.627 | 3.757 | 1.946 | 1.299 | 1.012 |
| Etanol Daun Kering | 8.446 | 3.385 | 3.551 | 1.858 | 1.848 |

Keterangan : Indeks Stimulasi kontrol (+) : 1.15



Gambar 2. Grafik Indeks Stimulasi Proliferasi Sel Limfosit Pada Kultur yang Ditambahkan Oksidator (H_2O_2)

Dari hasil perhitungan, dapat diketahui bahwa keempat jenis ekstrak daun tapak dara memiliki komponen aktif terutama komponen antioksidan yang cukup kuat yang mampu melindungi sel limfosit manusia dari oksidasi dan pelisisan sel oleh adanya oksidator (H_2O_2). Apabila ekstrak tersebut tidak memiliki komponen aktif terutama komponen antioksidan yang cukup kuat maka seharusnya proliferasi sel limfosit tidak terjadi ataupun lebih sedikit jumlahnya bila dibandingkan dengan kultur kontrol positif yang tidak ditambahkan oksidator. Dengan terlindunginya sel limfosit dari oksidasi maka pelisisan sel limfosit dapat dicegah sehingga proses proliferasi sel limfosit dapat berjalan dengan baik. Hal ini sesuai dengan percobaan Krismawati (5) pada kecombrang yang menunjukkan efek perlindungan oksidator H_2O_2 yang sama dari ekstrak kecombrang.

Dari keempat ekstrak, sampel daun tapak dara kering yang diekstrak dengan etanol adalah ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Ekstrak tersebut bahkan menunjukkan indeks stimulasi proliferasi yang jauh lebih besar bila dibandingkan kultur kontrol (+) yang tidak ditambahkan oksidator. Hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi senyawa antioksidan daun tapak dara akan lebih efektif bila dalam kondisi kering dan menggunakan pelarut etanol.

KESIMPULAN

Setelah melalui serangkaian pengujian secara *in vitro* menggunakan sel limfosit manusia, daun tapak dara terbukti dapat membantu terjadinya proliferasi atau dapat bersifat sebagai imunomodulator sel limfosit manusia. Selain dapat bersifat sebagai imunomodulator, ekstrak daun tapak dara baik dengan menggunakan aquades maupun etanol juga terbukti tidak toksik pada semua konsentrasi yang (perbandingan daun dengan pelarut 1:10). Perhitungan indeks stimulasi menunjukkan semua ekstrak daun tapak dara dapat secara efektif membantu proliferasi sel limfosit (imunomodulasi) hingga pengenceran $1/8$. Dari keempat ekstrak, ekstrak aquades daun kering pada konsentrasi 1 merupakan ekstrak yang memiliki paling baik membantu proliferasi limfosit (kemampuan imunomodulasi paling tinggi). Tidak hanya itu saja, keempat jenis ekstrak daun tapak dara terbukti memiliki komponen aktif terutama komponen antioksidan

yang mampu melindungi sel limfosit manusia dari oksidasi dan pelisisan sel oleh adanya oksidator (H_2O_2). Aktivitas antioksidan tertinggi dimiliki oleh ekstrak etanol daun kering. Hasil tersebut menunjukkan, bahwa proses pengeringan dan penggunaan etanol 96 % merupakan proses ekstraksi antioksidan daun tapak dara yang paling efektif. Secara keseluruhan, bila melihat manfaat dan sifat daun tapak dara yang tidak toksik maka daun tapak dara layak untuk dikembangkan lebih lanjut terutama sebagai pangan fungsional.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan kali ini penulis ingin mengucapkan termakasih kepada DIKTI atas dukungan dana pada tahun anggaran 2007 sehingga penelitian ini dapat berlangsung, kepada Prof. Dr. Ir. Fransiska R. Zakaria, M.Sc. atas segala waktu dan usahanya dalam membimbing penulis sehingga dapat dihasilkan karya tulis ini, dan kepada segenap pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian maupun karya tulis ini. Semoga karya tulis ini dapat menjadi inspirasi bagi terciptanya kehidupan yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- (1) Mursito, B., dan Prihmantoro, H. 2002. *Tanaman Hias Berkhasiat Obat*, Jakarta, Penebar Swadaya.
- (2) Masud Rana, A.Y. K. M. 2004. 'Antineoplastic screening of some medicinal plants', *J. Med. Sci.*, vol. 4, no 2, pp. 142-145.
- (3) Antia, B. S., & J. E. Okokan. 2005. 'Effect of leaf juice of *Catharanthus roseus* Linn on cholesterol, triglyceride, and lipoprotein levels in normal rats', *Indian J. Pharmacol.*, vol. 37, no. 6, pp. 401-402.
- (4) Muhlisah, F. 1999. *Taman Obat Keluarga*. Jakarta, Penebar Swadaya.
- (5) Krismawati, Agnes. 2007. Pengaruh ekstrak tanaman ceremai, delima putih, jati belanda, kecombrang, dan kemuning secara *in vitro* terhadap proliferasi sel limfosit manusia. Skripsi. Fateta, IPB Bogor.
- (6) Zakaria-Rungkat, F., Nurrahman, Prangdimurti, E., Tejasari. 2003. Antioxidant and Immunoenhancement Activities of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) Extracts and Compounds in In Vitro and In Vivo Mouse and Human System. *Nutraceuticals and Foods*.8; 96-104
- (7) Bounous, D. I., R. P., Campagnoli, & J. Brown. 1992. 'Comparison of MTT colorimetric assay and tritiated thymidine uptake for lymphocyte proliferation assay using chicken splenocytes', *Avian Dis*, vol. 36, pp. 1022-1027.
- (8) Dewi, N. I. 2008. Efek Asam Askorbat Terhadap Sel Kanker Hepatoma AH109A Dan Sel Eritrosit Manusia Secara *In Vitro*. Skripsi. Fateta, IPB Bogor.
- (9) Zakaria, F.R., M. Djaelani, Setyana, E. Rumondang, dan Nurrochmah. 2000. Carotenoid Bioavailability of Vegetables and Carbohydrate Containing

- Foods Measured by Retinol Accumulation in Rat Livers. *J. of Food Comp. Anal.* (13) : 297-310.
- (10) Kuby, J. 1992. *Immunology*. New York, W. H. Freeman and Company.
 - (11) Lee, S.J., J.H. Choi, K.H.Son, H.W. Chang, S.S. Kang, dan H.P.Kim. 1995. Suppression of Mouse Lymphocyte Proliferation *In Vitro* by Naturally Occuring Biflavonoids. *Life Sci* 57: 551-558
 - (12) Younkin, S., Oski, F.A., dan Barness, L.A. 1971. Mechanism of the hydrogen peroxide hemolysis test and its reversal with phenols. *The American Journal of Clinical Nutrition*. Januari. 24: 7-13.
 - (13) Niki, E., Komura, E., Takahashi, M., Urano, S., Ito, E., dan Terao, K. 1988. Oxidative hemolysis of erythrocytes and its inhibition by free radical scavengers. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 263. 36: 19809-19814.