

JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Efek Ekstrak Daun Bayam Brasil (*Alternanthera sissoo* hort) Terhadap Jumlah Limfosit dan Indeks Organ Timus dan Limpa Mencit Jantan

The Effect of Brazilian Spinach (*Alternanthera sissoo* hort) Leaf Extract on Lymphocyte Count and Organ Index of Male Mice

Priskila Melinia Wuni¹, Kukuh Madyaningrana^{2*}, Vinsa Cantya Prakasita³

^{1,2,3}Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta, Indonesia

*Email: madyaningrana@staff.ukdw.ac.id

INTISARI

Pemanfaatan keanekaragaman hayati flora masih sangat potensial dieksplorasi sebagai sumber obat. Salah satu penggunaan fitokimia adalah pemanfaatannya sebagai imunomodulator untuk membantu imunitas tubuh melawan agen infeksius. Tanaman bayam Brasil mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai salah satu imunostimulan berbasis herbal karena nilai nutrisi dan senyawa fitokimia yang dikandungnya. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efek ekstrak daun bayam Brasil terhadap respon imun mencit jantan dilihat dari jumlah limfosit dan nilai indeks limpa dan timus. Ekstrak daun bayam Brasil diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Deteksi fitokimia menggunakan metode biokimia kualitatif dan GC-MS. Uji *in vivo* dilakukan dengan memberikan 6 perlakuan pada mencit jantan peroral dalam 7 hari yaitu perlakuan akuades, kontrol negatif (Na-CMC-akuades), kontrol positif (imunostimulan komersil), dan tiga dosis ekstrak daun bayam Brasil yaitu 0,1563 mg/g BB; 0,312 mg/g BB), dan 0,468 mg/g BB. Jumlah limfosit dipreparasi dan dihitung dengan apusan darah, serta penghitungan indeks limpa dan timus berbasis perhitungan berat segar. Hasil identifikasi fitokimia ekstrak daun bayam brasil mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan steroid dalam ekstrak daun bayam Brasil. Analisis GC-MS menunjukkan 3 senyawa dominan yaitu *neophytadiene*, *phytol* dan *α-Tocopheryl acetate*. Pemberian ekstrak daun bayam Brasil dengan dosis 0,1563 mg/g BB paling efektif meningkatkan jumlah limfosit hewan uji. Nilai indeks timus dan limpa berkorelasi dengan meningkatnya jumlah limfosit pada pemberian ekstrak daun bayam Brasil. Hasil ini menunjukkan potensi dasar penggunaan daun bayam Brasil sebagai imunostimulan.

Kata Kunci : bayam brasil, mencit, limfosit, indeks limpa dan timus, efek imunostimulan

ABSTRACT

Utilization of flora biodiversity is very potential to be explored as a source of medicine. Their phytochemicals content could be used as immunomodulator to help body immunity fight against pathogen. Brazilian spinach has the potential to be developed as herbal-based immunostimulant because of its nutritional value and phytochemical compounds. This research aimed to study the effect of Brazilian spinach leaf extract on the immune response of male mice as shown by lymphocyte count and spleen and thymus index values. Extract of Brazilian spinach leaf was obtained by maceration method using 96% ethanol as solvent. Phytochemical were detected using qualitative biochemical methods and GC-MS. The *in vivo* test was carried out by giving 6 treatments to male mice orally in 7 days, namely

aquades treatment, negative control (Na-CMC-aquades), positive control (commercial immunostimulant), and three doses of Brazilian spinach leaf extract, namely 0.1563 mg/g. BB; 0.312 mg/g BW), and 0.468 mg/g BW. Lymphocytes was prepared and counted by blood smear method, while the calculation of spleen and thymus index were based on their fresh weight. Qualitative biochemical assays identified flavonoids, alkaloids, saponins, tannins and steroids in Brazilian spinach leaf extract, meanwhile GC-MS assays showed 3 dominant compounds, namely neophytadiene, phytol and α -tocopheryl acetate. Administration of Brazilian spinach leaf extract with dose of 0.1563 mg/g BW was the most effective in increasing lymphocytes count of tested animals. Thymus and spleen index values correlated with the increased number of lymphocytes in the administration of Brazilian spinach leaf extract. These results indicated basic potential of using Brazilian spinach leaves as an immunostimulant.

Keywords: Brazilian spinach, mice, lymphocytes, spleen and thymus index, immunostimulant effect

PENDAHULUAN

Keanekaragaman hayati tumbuhan telah dimanfaatkan sebagai sumber obat dari jaman dahulu sampai era modern ini (Neergheen-Bhujun *et al*, 2017). Tumbuhan tingkat tinggi banyak dimanfaatkan sebagai sumber pengobatan dan bahan baku obat akibat kandungan fitokimia yang dimilikinya (Fitzgerald *et al.*, 2020). Fungsi praktis tumbuhan yang berkhasiat obat menurut Atanasov *et al* (2015) adalah mencegah atau meredakan gejala penyakit, memodulasi proses fisiologis tubuh dalam menanggulangi sumber penyakit, atau penggunaannya sebagai bahan baku atau prekursor obat. sumber obat atau prekursor.

Sistem imunitas yang dimiliki oleh tubuh merupakan bagian dari sistem besar fisiologi tubuh yang bertanggungjawab dalam melindungi dan mempertahankan keutuhannya dari masuknya patogen (Chaplin, 2010). Keseimbangan fungsi imunitas tubuh dapat ditunjang oleh keberadaan senyawa imunomodulator yang berfungsi mengembalikan keseimbangan sistem imun dengan cara memodifikasi respon imun dengan mengaktifkan mekanisme pertahanan (Handayani, 2010). Pemanfaatan tanaman obat sebagai sumber imunomodulator, terutama yang bersifat imunostimulasi, telah banyak dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan tubuh (Sethi & Singh, 2015)

Bayam Brasil merupakan tanaman introduktif dari belahan benua Amerika Selatan

yang belum banyak dimanfaatkan di Indonesia. Tanaman yang daunnya banyak dimanfaatkan untuk konsumsi ini memiliki kandungan gizi seperti karoten, asam askorbat, ferrum, dan kalsium (Haryani 2021). Oleh karena belum adanya penelitian lebih lanjut mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder di dalam bayam Brasil, terutama yang dapat berperan sebagai imunomodulator, maka diperlukan penelitin dasar tentang hal tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efek ekstrak daun bayam Brasil terhadap respon imun mencit jantan dilihat dari jumlah limfosit dan nilai indeks limpa dan timus.

BAHAN DAN METODE

Preparasi Sampel dan Identifikasi Sampel

Daun bayam Brasil diperoleh dari beberapa kebun hortikultur di daerah Yogyakarta seperti Kebun Ratri, Gemah Ripah dan Omah Paseduluran. Bayam Brasil dari tiga lokasi tersebut mempunyai asal bibit dari tempat yang sama. Daun yang diambil adalah daun dengan ukuran siap panen untuk kebutuhan konsumsi dengan ukuran lebar 3-5 cm. Untuk memastikan bahwa sampel yang digunakan benar bayam Brasil (*Althernanthera sissoo* hort), maka sampel habitus bayam Brasil yang digunakan dikirimkan ke Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM untuk dilakukan determinasi.

Preparasi Ekstrak dan Pembuatan Ekstrak

Bubuk simplisia bayam Brasil (*Alternanthera sissoo hort*) sebanyak 1 kg dilarutkan dengan 3 liter pelarut etanol 96% lalu dihomogenkan dan di diamkan di ruang yang kedap cahaya selama 5 hari sambil sesekali di aduk. Ekstrak daun bayam Brasil tersebut kemudian disaring menggunakan kain mori, sehingga diperoleh solven (pelarut) atau filtrat Ekstrak cair tersebut kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kasar (Pujiati dan Leviana, 2012). Dihitung nilai rendemen hasil ekstrak kental tersebut dengan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot Ekstrak (Akhir)}}{\text{Bobot Simplisia (Awal)}} \times 100\%$$

Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid

Ekstrak sebanyak 0,3 gram dicampur dengan 5 ml HCL 2N, kemudian di panaskan selama 2-3 menit sembari di aduk perlahan, setelah itu diangkat dan dibiarkan dingin. Larutan tersebut kemudian di tambah dengan 0,3 gram NaCl, lalu di homogenkan dan di saring. Filtrat yang dihasilkan kemudian di bagi menjadi 3 yaitu A,B dan C. Tabung A ditambahkan 3 tetes aquades sebagai kontrol, B ditambah 3 tetets pereaksi mayer dimana hasil positif ditandai dengan adanya gumpalan berwarna putih atau kuning, dan tabung C ditambah 3 tetets pereaksi Weagner dimana hasil positif ditandai dengan adanya endapan berwarna coklat (Wahyu et al, 2021).

Uji Flavonoid

Ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambah dengan 3 ml n-heksana dan 20 ml etanol 80%, dibagi menjadi 3 bagian yaitu A, B dan C. Tabung A ditambah dengan 0,5 HCL pekat dan 4 potong Mg, kemudian ditunggu hingga Mg larut lalu ditambah awuades 1 ml dan butanol 1 ml. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna merah jingga menunjukkan adanya flavon, merah pucat ditandai dengan adanya flavonol dan merah tua adanya flavanon. B ditambah dengan 0,5 ml HCl pekat kemudian di panaskan di penangas air. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna ungu atau merah menunjukkan adanya senyawa

leukoantosianin. C ditambah dengan 0,5 ml H₂SO₄ pekat, kemudian dipanaskan diatas penangas air. Perubahan warna hijau kekuning-kuningan menunjukkan adanya flavonoid (Wahyu et al, 2021).

Uji Steroid dan Terpenoid

Ekstrak sebanyak 0,3 gram dilarutkan dengan 15 ml etanol, kemudian dibagi menjadi 3 bagian yaitu A, B dan C. A sebagai blanko, B ditambah dengan 3 tetes asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat, selanjutnya dikocok secara perlahan. Perubahan warna hijau biru menunjukkan adanya saponin terpenoid, warna merah ungu menunjukkan adanya saponin triterpenoid dan warna kuning muda menunjukkan adanya sapogenin jenuh. Kemudian pada larutan C ditambahkan 1-2 ml H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi. Timbulnya cincin warna merah merupakan hasil positif steroid (Wahyu et al, 2021).

Uji Tanin

Ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambah dengan 10 ml aquades panas. Ekstrak tersebut didiamkan hingga dingin di suhu ruang, setelah itu ditambah dengan 3-4 tetes NaCl 10% lalu diaduk dan disaring. Filtrat dibagi menjadi 2 yaitu A dan B. A sebagai blanko dan yang B ditambah dengan 2-3 tetes FeCl₃. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru kehitaman atau hijau kehitaman (Wahyu et al, 2021).

Uji Saponin

Ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambah dengan 10 ml aquades, lalu didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika muncul busa setinggi 1-10 cm maka larutan tersebut mengandung saponin (Wahyu et al, 2021).

Perlakuan pada Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan, yang juga dilakukan dengan mengindahkan kesejahteraan hewan. Keterangan *ethical clearance* diperoleh dari Komisi Etik FK UKDW dengan nomor surat 139/C.16/FK/2022.

Hewan coba mencit jantan yang digunakan berasal dari galur Balb/C dengan rentang umur 2-3 bulan dan rentang berat

25-30 g diperoleh dari UD. Abadi Jaya Peternakan Hewan Uji.

Sebelum digunakan sebagai hewan coba, mencit diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari agar dapat beradaptasi dengan lingkungan yang baru. Selama aklimatisasi, mencit diberikan pakan mencit sebanyak 30 gram dan minum air sebanyak 60 ml tiap harinya.

Perlakuan pemberian ekstrak daun bayam Brasil secara oral kepada mencit dibagi ke dalam 6 kelompok perlakuan seperti yang tercantum pada Tabel 1. Masing-masing sediaan diberikan secara per oral 1 kali sehari selama 7 hari.

Tabel 1. Deskripsi Perlakuan Dan Dosis Pada Mencit

Kelompok	Perlakuan
Aquades	Aquades diberikan secara oral sebanyak 0,3 ml
Kontrol - (K-)	Aquades + Na-CMC diberikan secara oral sebanyak 0,3 ml
Kontrol + (K+)	Stimuno diberikan secara oral sebanyak 0,3 ml
EDBB 12,5	Ekstrak 0,1563 mg/g BB diberikan secara oral
EDBB 50	Ekstrak 0,312 mg/g BB diberikan secara oral
EDBB 75	Ekstrak 0,468 mg/g BB diberikan secara oral

Keterangan : EDBB (Ekstrak Daun Bayam Brasil)

Perhitungan dosis ekstrak bayam Brasil kepada mencit didasarkan pada perhitungan dengan rumus yang diformulasikan oleh Liu dan Fan (2018) :

$$\frac{A(\text{animal})}{B(\text{human})} = \frac{KmB}{KmA}$$

Perhitungan Jumlah Sel Limfosit

Preparat apusan darah dibuat dari darah mencit pada hari awal perlakuan, hari ketiga dan hari ketujuh sebagai akhir penelitian. Preparat apusan darah yang telah dibuat ini digunakan untuk menghitung jumlah limfosit mencit. Menurut Aldi (2016), presentase

limfosit dari total 100 leukosit di hitung menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah Sel} : \frac{\text{Jumlah Jenis Sel}}{100 \text{ sel leukosit}} \times 100\%$$

Perhitungan Nilai Indeks Limpa dan Timus

Organ limpa dan timus mencit diambil pada hari ketujuh saat hewan coba di korbakan. Berat organ limpa dan timus digunakan untuk perhitungan indeks organ menurut formula yang dikemukakan oleh Aldi (2016).

$$\text{Indeks organ} = \frac{\text{Berat organ (g)}}{\text{Berat badan akhir (g)}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Konfirmasi Determinasi Bayam Brasil

Hasil determinasi yang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM mengkonfirmasi bahwa spesimen bayam Brasil (Gambar 1) yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Alternanthera sissoo* hort (Anonim, 2022) dengan sinonim *Alternanthera sessilis* (L.) R.Br. ex DC (Cordeiro, 2022) dengan klasifikasi tersaji pada Tabel 2.



Gambar 1. Tanaman Bayam Brasil (Sumber Dokumentasi Pribadi)

Tabel 2. Hasil Determinasi spesies bayam Brasil

Taksa	Nama
Divisi	Tracheophyta
Subdivisi	Spermatophytina
Kelas	Magnoliopsida
Super ordo	Caryophyllanae
Ordo	Caryophyllales
Familia	Amaranthaceae
Genus	<i>Alternanthera</i>
Species	<i>Alternanthera sessilis</i> L (DC)
Sinonim	<i>Alternanthera sissoo hort</i>
Nama lokal	Bayam Brasil

Ekstrak Daun Bayam Brasil

Ekstraksi daun bayam Brasil dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi paling sederhana serta menggunakan suhu ruang yaitu sekitar 40°C–50°C sehingga tidak merusak zat aktif yang terdapat di dalam ekstrak daun bayam Brasil (Simanjuntak,2008). Ekstraksi daun bayam Brasil dalam penelitian ini menghasilkan ekstrak sejumlah 123 g dari 1000 g simplisia, sehingga rendemen yang diperoleh mempunyai nilai 12,3%. Ekstrak daun bayam brasil yang dihasilkan dalam penelitian ini mempunyai tekstur kental dengan warna hijau pekat.



Gambar 2. Ekstrak Daun Bayam Brasil yang diperoleh dengan Metode Maserasi (Sumber Dokumentasi Pribadi)

Uji Biokimia Kualitatif pada Ekstrak Daun Bayam Brasil dengan

Skrining fitokimia ekstrak bayam Brasil yang dilakukan dengan uji biokimia kualitatif untuk mendeteksi kandungan senyawa

flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dan steroid (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Skrining Biokimia Kualitatif

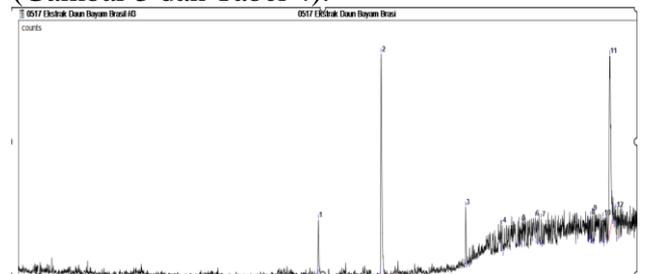
Senyawa	Hasil
Flavonoid	+
Alkaloid	+
Saponin	+
Tanin	+
Terpenoid	-
Steroid	+

Keterangan : (+ adalah senyawa terdeteksi, - adalah senyawa tidak terdeteksi)

Senyawa flavonoid sebagai salah satu senyawa yang terdeteksi dalam ekstrak daun bayam Brasil merupakan senyawa yang umum dikenal dalam menunjang imunitas. Menurut Ilyas dkk (2016), senyawa flavonoid berperan penting sebagai imunostimulan. Alkaloid, sebagai kelompok fitokimia lain yang terdeteksi, menurut Widiyanto (1987) dapat berperan sebagai imunomodulator. Saponin, steroid dan tanin yang terdeteksi dari ekstrak bayam Brasil juga mempunyai dampak terhadap imunitas. Menurut Hasbullah (2016), saponin berperan penting sebagai antimikrobia, antiinflamasi, imunostimulan dan antioksidan. Steroid dan tanin berperan sebagai antivirus, antibakteri dan anti kanker (Simanjuntak, 2019)

Analisis Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS)

Analisis kandungan senyawa ekstrak daun bayam Brasil dengan menggunakan GC-MS menunjukkan bahwa ekstrak daun bayam Brasil mengandung 14 senyawa fitokimia dengan 3 senyawa diantaranya adalah senyawa dominan (Gambar 3 dan Tabel 4).



Gambar 3. Kromatogram hasil analisis GC-MS ekstrak daun bayam Brasil

Tabel 4. Senyawa dominan ekstrak daun bayam Brasil yang terdeteksi dengan GC-MS

Puncak ke-	Waktu retensi (menit)	Rumus Kimia	Nama Senyawa	Luas Area (%)
1	16,92	C ₂ OH ₃₈	Neophytadiene	5,48
2	19,62	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	Phytol	32,3
11	29,46	C ₃₁ H ₅₂ O ₃	α-Tocopheryl acetate	37,2

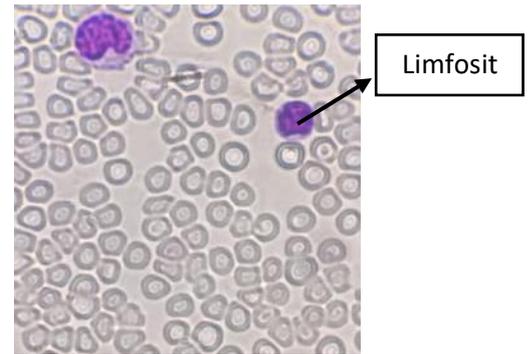
Keterangan : Senyawa tersebut dalam Tabel 4 adalah 3 senyawa dominan dari 14 puncak/kemungkinan senyawa yang terdeteksi dari ekstrak

Ketiga senyawa dominan tersebut adalah α-Tocopheryl acetate (luas area 37,17%), phytol (luas area 32,28%) dan neophytadiene luas area sebesar 5,48%). Senyawa α-Tocopheryl acetate yang merupakan isoform vitamin E diperlukan untuk modulasi jumlah dan fungsi komponen sistem imun (Wang *et al*, 1999). Kekurangan vitamin E dapat berdampak pada penurunan limfosit dan proliferasi limpa, menghambat aktifitas sel pembunuh alami, menghambat produksi setelah vaksin serta menghambat produksi fagositosis pada neutrophil (Risvi *et al*, 2014)

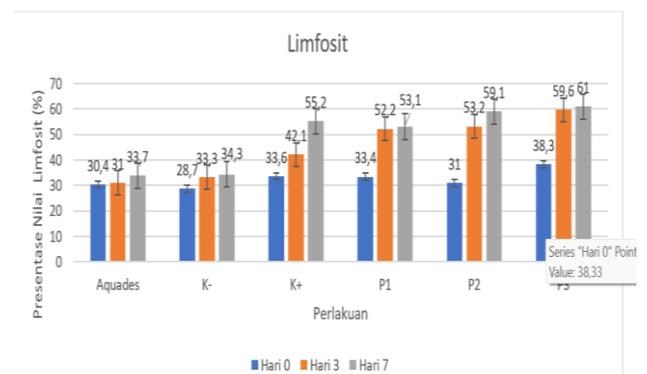
Senyawa phytol dan senyawa neophytadine merupakan senyawa golongan terpenoid, dimana phytol berfungsi untuk memodulasi respon imun dengan cara meningkatkan kemokin dan sitokin sebagai molekul sinyal inflamasi ataupun apoptosis sel terinfeksi (Aachoui *et al*, 2011; Chowdhury *et al*, 2013).

Efek Pemberian Ekstrak Bayam Brasil terhadap Jumlah Limfosit

Limfosit (Gambar 4) merupakan jenis sel darah putih yang paling banyak beredar setelah neutrofil. Limfosit memiliki inti sel berbentuk bulat besar dan padat (Firani,2018). Limfosit ini banyak berkembang dalam jaringan limpa.

**Gambar 4.** Morfologi limfosit menciit (1000x) (sumber : dokumentasi pribadi)

Hasil perhitungan jumlah limfosit menciit yang diberi perlakuan ekstrak bayam Brasil dan beragam perlakuan kontrolnya disajikan dalam Gambar 5.

**Gambar 5.** Jumlah limfosit darah menciit yang diberi perlakuan ekstrak daun bayam Brasil per oral pada titik sampling hari 0,3 dan 7 dengan metode apusan darah.

Keterangan : Aquades, K-(Perlakuan Kontrol Negatif), K+ (Perlakuan Kontrol Positif), P1 (Perlakuan Dosis 1 (0,1563mg/g BB)), P2 (Perlakuan Dosis 2 (0,312 mg/g BB)), P3 (Perlakuan Dosis 3 (0,468 mg/g BB))

Jumlah limfosit menciit yang diberi ekstrak daun bayam Brasil, baik dosis 1 (0,1563 mg/g BB), dosis 2 (0,312 mg/g BB), dan dosis 3 (0,468 mg/g BB), terlihat meningkat pada setiap waktu sampling (hari 0, 3 dan 7).

Tabel 5. Analisis statistik jumlah limfosit darah mencit yang diberi perlakuan ekstrak daun bayam brasil

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Aquades	26	31.73		
Kontrol (-)	27	32.70		
Kontrol (+)	27		43.63	
Dosis 1	27		45.96	
Dosis 2	27		46.96	
Dosis 3	27			52.33

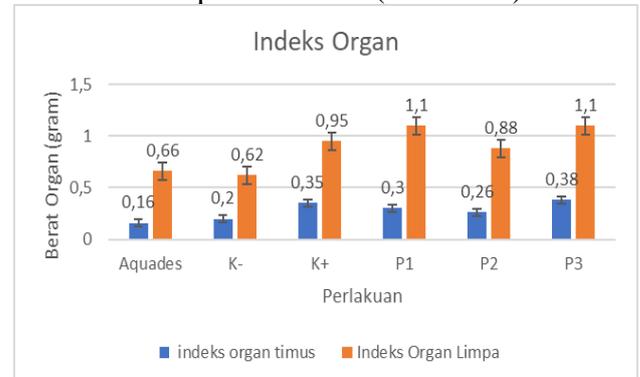
Hasil analisis statistik memperoleh nilai sig $P < 0,05$, yang menunjukkan adanya perbedaan jumlah limfosit yang signifikan antar kelompok perlakuan dosis ekstrak bayam Brasil. Berdasarkan *post hoc test*, perlakuan dosis 1 dan 2 masih dalam 1 subset dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bayam brasil dosis 1 (0,1563 mg/g BB) dan 2 (0,312 mg/g BB) memiliki efek yg tidak jauh berbeda dengan control imunomodulator komersial yang digunakan dalam penelitian ini.

Limfosit merupakan sel imun dari sistem imunitas adaptif yang sangat berperan penting sebagai komponen sel lapis terakhir untuk penyelenggaraan pertahanan terhadap patogen (Chaplin, 2010). Limfosit yang terbagi atas limfosit B dan T mempunyai beragam fungsi bagi imunitas tubuh baik terhadap beragam patogen ataupun pertumbuhan sel yang tidak terkendali. Fungsi ini diperoleh dari antibodi yang dihasilkan oleh limfosit B, sel T-helper sebagai inisator diferensiasi limfosit B dan T, dan sel T sitotoksik sebagai hasil diferensiasi sel T muda (Nicholson, 2016).

Keberadaan vitamin E dalam ekstrak daun bayam Brasil mampu mendukung proliferasi dan diferensiasi limfosit. Menurut Risvi *et al* (2014), keberadaan vitamin E dalam sistem sirkulasi mampu meningkatkan proliferasi limfosit dan sel NK.

Efek Pemberian Ekstrak Bayam Brasil terhadap Indeks Organ Limpa dan Timus

Pemberian ekstrak bayam Brasil meningkatkan nilai indeks limpa dan timus pada mencit dalam penelitian ini (Gambar 6).



Gambar 6. Indeks organ timus dan limpa mencit yang diberi perlakuan ekstrak daun bayam Brasil per oral selama 7 hari.

Keterangan : Aquades, K-(Perlakuan Kontrol Negatif), K+ (Perlakuan Kontrol Positif), P1 (Perlakuan Dosis 1 (0,1563mg/g BB)), P2 (Perlakuan Dosis 2 (0,312 mg/g BB)), P3 (Perlakuan Dosis 3 (0,468 mg/g BB))

Pemberian ekstrak bayam Brasil juga terlihat bisa meningkatkan nilai indeks organ timus dan limpa, jika dibandingkan dengan kontrol positif berupa imunostimulan komersial. Limpa dan timus merupakan organ yang mempunyai fungsi sebagai tempat pematangan limfosit, terutama limfosit T.

Gambar 6 menunjukkan bahwa rerata indeks organ limpa berkisar antara 0,7% - 1,1%, sedangkan indeks organ timus berkisar antara 0,1% - 0,3%. Nilai-nilai ini menunjukkan peningkatan indeks kedua organ. Persentase tertinggi nilai indeks limpa mencit diperoleh dari perlakuan dosis 1 (0,1563 mg/g BB) sedangkan persentase tertinggi nilai indeks timus mencit diperoleh dari perlakuan dosis 3 (0,468 mg/ g BB). Menurut Makiyah (2014), peningkatan berat limpa menunjukan terjadinya peningkatan jumlah sel yang terdapat didalam limpa seperti sel darah merah, sel limfosit T, sel limfosit B, sel dendrik dan sel makrofag.

Tabel 6. Analisis statistik indeks organ timus pada mencit yang diberi perlakuan ekstrak daun bayam Brasil

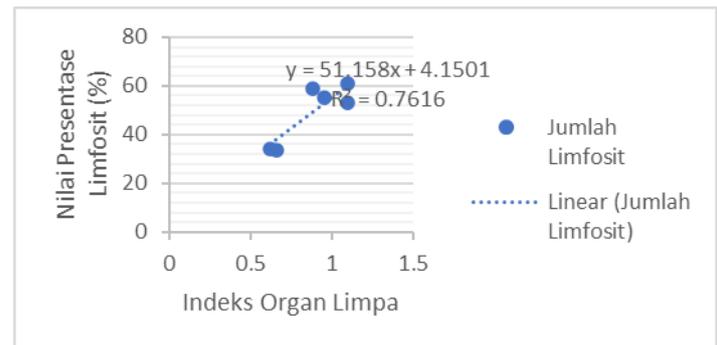
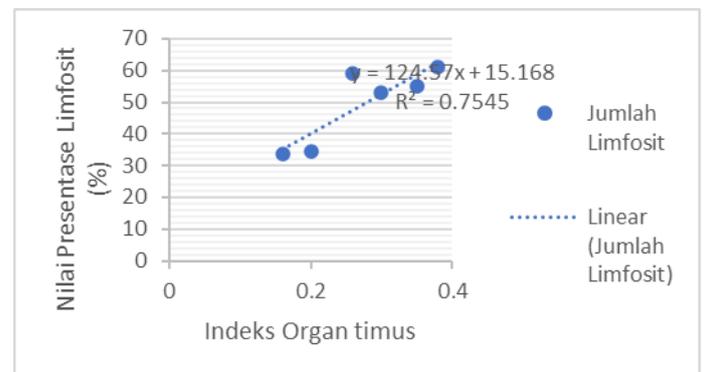
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05 1
Aquades	3	.1567
Kontrol - Dosis 2	3	.2033
Dosis 2	3	.2600
Dosis 2	3	.3333
Kontrol +	3	.3500
Dosis 3	3	.3833
Sig.		.415

Tabel 7. Analisis statistik indeks organ limpa pada mencit yang diberi perlakuan ekstrak daun bayam Brasil

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05 1
Aquades	3	.6233
Kontrol - Dosis 2	3	.6567
Dosis 2	3	.8833
Dosis 2	3	.9533
Kontrol +	3	1.1000
Dosis 3	3	1.1000
Sig.		.088

Hasil analisis statistik indeks organ limpa dan timus menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok. Berdasarkan *post hoc test*, perlakuan ekstrak daun bayam Brasil dosis 1 sampai dosis 3 masih dalam satu subset dengan perlakuan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak bayam brasil tidak memiliki efek yg jauh berbeda dengan perlakuan kontrol positif yang menggunakan imunomodulator komersial

Berdasarkan hasil analisis menggunakan regresi linear sederhana (Gambar 7 dan 8), terindikasi adanya hubungan antara naiknya masing-masing nilai indeks limpa dan timus terhadap jumlah limfosit yang terhitung dari preparat apus darah pada hari ketujuh. menunjukkan bahwa pengaruh indeks organ limpa terhadap jumlah limfosit yaitu sebesar

**Gambar 7.** Hubungan antara indeks organ limpa dengan jumlah limfosit mencit**Gambar 8.** Hubungan indeks organ timus dengan jumlah limfosit

Nugroho (2018) menyatakan bahwa meningkatnya berat organ seperti limpa akan berkaitan dengan meningkatnya jumlah limfosit yang dihasilkan secara proporsional, sehingga naiknya berat limpa serta timus akan mengindikasikan naiknya jumlah limfosit yang dihasilkan.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak daun bayam Brasil memberikan pengaruh peningkatan terhadap jumlah limfosit dan indeks organ limpa dan timus pada mencit. Naiknya jumlah limfosit dan organ limpa dan timus ini diduga terkait dengan kandungan fitokimia yang dikandung oleh daun bayam Brasil seperti flavonoid dan alkaloid yang terdeteksi melalui uji biokimia kualitatif ataupun vitamin E dan phytol yang terdeteksi melalui analisis GC-MS. Dosis terbaik pada ekstrak daun bayam Brasil yang bisa menstimulasi jumlah limfosit dan indeks organ adalah dosis 1 dengan nilai 0,1563 mg/g BB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada LPPM UKDW Yogyakarta yang telah mendanai penelitian ini melalui hibah penelitian tenaga pengajar tahun 2022 dan semua pihak yang telah membantu terselenggaranya pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aachoui, Y., Chowdhury, R.R., Fitch, R.W., and Ghosh, S.K. 2011. Molecular signatures of phytol-derived immunostimulants in the context of chemokine–cytokine microenvironment and enhanced immune response. *Cellular Immunology* 271 : 227-238.
- Aldi, Y., Dewi, O. N., and Uthia, R. 2016. Uji Imunomodulator dan Jumlah Sel Leukosit Dari Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Pada Mencit Putih Jantan. *Scientia Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 6(2):139. DOI:10.36434/scientia.v6i2.58
- Anonim. 2022. *Alternanthera sissoo hort hort*. Available from <https://www.nparks.gov.sg/florafaunaweb/flora/6/3/6373>
- Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-wenzig, E., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Temml, V., Wang, L., Schwaiger, S., Heiss, E. H., Rollinger, J. M., Schuster, D., Breuss, J. M., Bochkov, V., Mihovilovic, M. D., Kopp, B., Bauer, R., Dirsch, V. M., and Stuppner, H. 2015. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology Advances*, 33(8) : 1582–1614. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001>
- Chaplin, D.D. 2010. Overview of the immune response. *J Allergy Clin Immunol.* 125(2 Suppl 2), S3-23. doi: 10.1016/j.jaci.2009.12.980.
- Cordeiro, S.Z. 2022. *Alternanthera sessilis* (L.) R.Br. ex DC. Available from <http://www.unirio.br/ccbs/ibio/herbariohu/ni/alternanthera-sessilis-l-r-br-ex-dc>
- Fitzgerald, M., Heinrich, M., and Booker, A. 2020. Medicinal Plant Analysis: A Historical and Regional Discussion of Emergent Complex Techniques. 10 (January) : 1–14. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01480>
- Firani, N.K. 2018. Mengenali Sel-sel Darah dan Kelainan Darah. Malang : UB Press.
- Handayani, G.N. 2010. Imunomodulator. *Jurnal Al-Fikr.* 14(1) : 150-166.
- Hasbullah, U. H. A 2016. Kandungan Senyawa Saponin pada Daun, Batang dan Umbi Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steeins. *Planta Tropika Journal of Agro Science*, 4(1) : 20-24, DOI 10.18196/pt.2016.052.20-24
- Ilyas, Y., Muhammad, Firdayanti, Wahyuni, 2019. Peningkatan Imunitas Non Spesifik (*Innate Immunity*) Mencit Balb/C yang Diberi Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Galing (*Cayratia trifolia* L.Domin.), *Medical Sains*, 3(2) : 83-92.
- Liu, E., and Fan, J. 2018. Fundamentals of Laboratory Animal Science. Boca Raton
- Makiyah SN, Iszamriach R, Nofariyandi A. 2014. Paparan Sinar Ultraviolet C Meningkatkan Diameter Pulpa Alba Limpa dan Indeks Mitotik Epidermis Kulit Mencit. *J Kedokteran Brawijaya* 28 (1) : 14-21
- Neergheen-Bhujun, V., Awan, A.T., Baran, Y., Bunnefeld, N., Chan, K., de la Cruz, T.E., Egamberdieva, D., Elsasser, S., Johnson, M.V., Komai, S., Konevega, A.L., Malone, J.H., Mason, P., Nguon, R., Pipre, R., Shrestha, U.B., Pešić, M., and Kagansky, A. 2017. Biodiversity, drug discovery, and the future of global health: Introducing the biodiversity to biomedicine consortium, a call to action. *J Glob Health.* 7(2): 020304, doi: 10.7189/jogh.07.020304
- Nicholson, L.B. 2015. The immune system. *Essays in Biochemistry*, 60:275–301, DOI: 10.1042/EBC20160017
- Nugroho, R.A. 2018. Mengenal Mencit Sebagai Hewan uji. Mulawarman University

- Press.Samarinda
- Pujiati, F., and Leviana, F. 2012. Penetapan Kadar Fenolik Total pada Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, air dan Ekstrak Daun Bayam Merah (*Amarantus gangeticus* Hort) dengan Metode Folin-Ciocalteu. Jurnal Farmasi Indonesia 9(1) : 70-76
- Rajasekaran, A and Kanimozhi, S. 2012 Pharmacognostic Evaluation of Alternanthera sesilis (L) R.Br. ex DC. Pharmacognosy Journal, 4(28) : 31-34
- Rizvi, S., Raza, S.T., Ahmed, F., Ahmad, A., Abbas, S., and Mahdi, F. 2014.The role of Vitamin E in human health and some diseases. Sultan Qaboos Univ. Medical Journal 14 : 157–165.
- Sethi, J. and Singh, J. 2015. Role of Medicinal Plants as Immunostimulants in Health and Disease. Ann Med Chem Res 1(2): 1-5
- Simanjuntak, R. I. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bayam Duri (*Amaranthus spinosus* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara in Vitro. (Skripsi). Medan : Universitas Sumatera Utara
- Toensmeier, E.. 2007. Perennial Vegetables: From Artichokes to Zuiki Taro. Chelsea Green Publishing.
- Wahyu, H.S., Madyaningrana, K. and Prakasita, V.C. 2021. Effects of Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* (Roxb.) Walp.) Leaves Extract on Lymphocytes Count and Spleen Index of Male Balb/C Strain Mice (Mus musculus L.). Sch Acad J Biosci, 2021 Sept 9(9) : 248-255
- Wang, X. and Quinn, P.J. 1999.Vitamin E and its function in membranes. Prog. Lipid Res., 38 : 309–336.
- Widiyanto, M. B. 1987. Immunomodulator. Bandung: Institut Teknologi Bandung Press.