

**PERANAN BUAH MENKUDU (*Morinda citrifolia*)  
TERHADAP AKTIVITAS FAGOSITOSIS LEUKOSIT  
POLIMORFONUKLEAR TIKUS (*Rattus norvegicus*)  
YANG DIBERI DIET LEMAK TINGGI**

The Effect of Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) to The Phagocytose Activity of Polymorphonuclear Leucocytes of High Dietary Fat of Rats (*Rattus norvegicus*)

**JEMMI SETIO UTOMO, RINTO SUKOCO, ADIMAS GALIH, DAN  
SITI ISRINA OKTAVIA SALASIA**

Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan UGM, Jl. Olah Raga, Karang Malang, Yogyakarta 55381,  
Tlp. 0274.560862, Fax. 0274.560861, e-mail: isrinasalasia@ugm.ac.id

**ABSTRACT**

This study was done to evaluate the effect of mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) to the phagocytose activity of polymorphonuclear leucocytes of high dietary fat of rats.

Fifteen female Wistar albino rats (*Rattus norvegicus*) 1 month of age, were divided into 5 groups of 3 rats. The 1<sup>st</sup> group was fed with the basic food as a control. The 2<sup>nd</sup> group was fed with the basic food and 5% of fat. The 3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup>, and 5<sup>th</sup> groups were fed with the basic food and 5% fat supplemented with mengkudu with the dose of 3,2 ml, 3,6 ml, and 4,0 ml/200 g body weight/oral/day for 2 months, respectively. At the end of the reasearch, the blood samples were collected from retroorbital plexus to evaluate the phagocytose activity of polymorphonuclear leucocytes *in vitro*.

The results of the reasearch were shown that the 5% diet fat of rats did not influence the phagocytose activity of polymorphonuclear leucocytes *in vitro* (22,13±1,33 bacteria/cell) compared to the control (21,11±3,59 bacteria/cell). Mengkudu with the dose of 3,6 ml/200 g body weight could increase the phagocytose activity of polymorphonuclear leucocytes (27,69±2,99 bacteria/cell) significantly ( $p < 0,05$ ) compared to the control (21,11±3,59 bacteria/cell) and the group which fed the basic food and 5% of fat (22,13±1,33 bacteria/cell).

*Keywords* : Leukocytes, mengkudu (*Morinda citrifolia*), phagocytose

**PENDAHULUAN**

Dalam kehidupan sehari-hari banyak faktor, baik faktor internal maupun eksternal, yang dapat menyebabkan tubuh mengalami penurunan kemampuan dalam mempertahankan diri dari pengaruh lingkungan luar yang merugikan. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan penurunan daya tahan tubuh antara lain adalah perubahan suhu dan kelembaban lingkungan yang drastis, kelelahan fisik dan mental, kurang tidur, pola makan yang tidak teratur dan stres. Penurunan daya tahan tubuh akan menyebabkan tubuh mudah terserang penyakit, mulai dari penyakit ringan seperti influenza hingga penyakit berat yang dapat membahayakan kehidupan.

Penggunaan obat-obatan antibiotik sintetik guna menanggulangi penyakit yang berhubungan dengan penurunan daya tahan tubuh, kadang-kadang dapat menimbulkan efek samping yang tidak baik bila dikonsumsi dalam jangka waktu lama karena obat-obatan tersebut dapat berakumulasi di dalam tubuh. Untuk mengatasi masalah ini, maka perlu dilakukan usaha mencari sumber obat-obatan yang alami, murah dan tidak menimbulkan efek samping bila dikonsumsi dalam jangka waktu lama.

Buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) telah dikenal masyarakat luas sebagai obat tradisional dan dipercaya mampu menyembuhkan berbagai macam penyakit. Manfaat buah mengkudu ini antara lain adalah mematikan kuman, meningkatkan sistem pertahanan tubuh,

melancarkan buang air besar, melancarkan keluarnya air seni, pereda rasa sakit, mengatasi radang dan alergi dan mengatasi hipertensi (Sibuea, 2000). Melihat luasnya penggunaan buah mengkudu sebagai obat-obatan tradisional, maka perlu dilakukan pengkajian ilmiah peranan buah mengkudu terhadap peningkatan daya tahan tubuh, terutama daya tahan terhadap infeksi bakteri.

## MATERI DAN METODE

### Pembuatan Ekstrak Buah Mengkudu

Buah mengkudu diperoleh dari daerah Sedayu, Bantul, Yogyakarta. Buah mengkudu yang masih segar dan tidak terlalu masak dicuci bersih dan diambil daging buahnya saja kemudian ditimbang sebanyak  $\pm 300$  gr. Daging buah dipotong-potong, ditambah air sebanyak 100 ml dan diblender selama 5 menit. Jus yang diperoleh kemudian disaring dengan kain flanel sehingga didapat cairan ekstrak berwarna kecoklatan. Cairan ini kemudian dipanaskan hingga diperoleh cairan agak kental sebanyak 50 ml (Sрати, 1991).

### Pencampuran Pakan Dasar Dengan Lemak Babi 5%

Lemak babi diperoleh dari Pasar Kranggan, Yogyakarta, berupa minyak babi yang sudah jadi. Pakan dasar berupa pakan komersial AD-2 diperoleh dari Poultry Shop, Jl. Godean, Yogyakarta, dengan komposisi protein kasar 15%, lemak kasar 4%, serat kasar 5%, abu 7% kadar air 12%, kalsium 0,9-1,1% dan phosphor 0,7-0,9%. Pakan dasar dengan lemak babi 5% dibuat dengan cara menambahkan lemak babi sebanyak 5 gr ke dalam pakan AD-2 sebanyak 100 gr.

### Desain penelitian

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina strain *Wistar* umur 1 bulan, berat badan (BB)  $\pm 75$  gr, sebanyak 15 ekor, diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP), Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, di bagi 5 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor. Kelompok I hanya diberi pakan dasar saja sebagai kontrol. Kelompok II diberi pakan dasar dan lemak babi 5%. Kelompok III diberi pakan dasar dan lemak babi 5% diikuti dengan pemberian ekstrak buah mengkudu 3,2 ml/200 gr BB/oral/ekor. Kelompok IV diberi pakan dasar dan lemak babi 5% dan ekstrak buah mengkudu 3,6 ml/200 gr BB/oral/ekor. Kelompok V diberi pakan dasar dan lemak babi 5% dan ekstrak buah mengkudu 4,0 ml/200 gr BB/oral/ekor. Perlakuan diberikan selama 2 bulan, pada akhir penelitian masing-masing tikus diambil sampel darahnya untuk dilakukan uji fagositosis polimorfonuklear leukosit.

### Uji fagositosis leukosit polimorfonuklear terhadap bakteri

Darah diambil dari pleksus retroorbitalis masing-masing tikus sebanyak  $\pm 2$  ml dan ditampung dalam tabung reaksi yang telah diberi *ethylenediamine tetraacetic acid* (EDTA), dengan dosis 1-2 mg/ml darah (Benjamin, 1978). Darah kemudian disentrifus dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dibuang, sel-sel darah yang ada di bawah digunakan untuk uji fagositosis.

Biak murni bakteri *Staphylococcus aureus* strain 155 ditanam dalam 10 ml media kaldu *brain heart infusion* (BHI, Oxoid, Jerman) pada suhu 37°C selama 24 jam. Kaldu yang telah ditumbuhi oleh *Staphylococcus aureus* tersebut di *vortex* hingga koloni di dasar

tabung tercampur homogen, kemudian disentrifus selama 10 menit, dengan kecepatan 5.000 rpm. Pelet dicuci 2 kali dengan *phosphate buffer saline* (PBS). Pelet yang diperoleh dilarutkan dalam 2 ml PBS dan ditentukan *optical density* (OD)-nya pada transmisi 10% dengan spektrofotometer (Spectronic 21)  $\lambda$  620 nm, sehingga diperoleh larutan bakteri  $10^9$  bakteri/ml. larutan tersebut kemudian diencerkan dengan PBS steril 1 : 10 hingga diperoleh larutan bakteri  $10^8$  bakteri/ml (modifikasi) (Salasia, 1994).

Sebanyak 0,5 ml larutan darah dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah dengan 0,5 ml larutan bakteri, kemudian diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 1 jam. Larutan diteteskan di atas gelas obyek, kemudian di buat preparat apus darah dan diwarnai dengan safranin O (Merck, Jerman) 10% selama 30 menit. Jumlah bakteri yang difagosit oleh leukosit dihitung di bawah mikroskop (Salasia, 1994).

Untuk melihat perbedaan aktivitas fagositosis leukosit polimorfonuklear antar kelompok perlakuan, data yang dihasilkan diuji dengan analisis varian satu arah. Perbedaan bermakna bila nilai F yang diteliti pada  $\alpha_{0,05}$  lebih besar daripada F tabel. Jika terdapat perbedaan bermakna, analisis dilanjutkan dengan uji *honestly significant difference* (HSD) (Setyarso dan Mardawa, 1985).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji fagositosis leukosit polimorfonuklear (PMN) tikus terhadap *Staphylococcus aureus* kelompok kontrol, kelompok yang diberi diet lemak babi 5% dan yang diberi ekstrak buah mengkudu dengan dosis berbeda-beda selama 60 hari, dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan perhitungan statistik hasil uji fagositosis leukosit polimorfonuklear, diketahui bahwa aktivitas fagositosis leukosit polimorfonuklear kelompok tikus yang diberi diet lemak tinggi tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok tikus kontrol dan kelompok tikus yang diberi perlakuan ekstrak mengkudu dengan dosis 3,2ml/200 gr BB dan 4,0 ml/200 gr BB. Akan tetapi aktivitas fagositosis pada kelompok IV yang diberi ekstrak mengkudu dengan dosis 3,6 ml/200 gr BB menunjukkan peningkatan aktivitas fagositosis ( $27,69 \pm 2,99$  bakteri/sel PMN) secara signifikan ( $P < 0,05$ ) bila dibandingkan dengan kelompok II ( $22,13 \pm 1,33$  bakteri/sel PMN). Dari hasil analisis varian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak mengkudu dengan dosis 3,6 ml/200 gr BB pada tikus yang diberi pakan dasar dengan lemak babi 5% mampu meningkatkan kemampuan leukosit polimorfonuklear dalam memfagosit bakteri *Staphylococcus aureus*. Hulthe *et al.* (2001) melaporkan bahwa kejadian aterosklerosis akibat diet lemak tinggi dapat menghambat pergerakan leukosit menembus dinding pembuluh darah ke arah agen infeksi (keradangan). Dalam penelitian ini kemungkinan uji fagositosis yang dilakukan secara *in vitro* tidak bisa menggambarkan keadaan hambatan pergerakan leukosit akibat aterosklerosis secara *in vivo*, sehingga hasil uji fagositosis antara kelompok diet lemak tinggi dan kelompok kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Peningkatan aktivitas fagositosis polimorfonuklear leukosit terhadap *Staphylococcus aureus* pada kelompok tikus yang diberi perlakuan ekstrak mengkudu terjadi karena diduga kandungan senyawa-senyawa polisakarida dalam ekstrak mengkudu mempunyai peranan sebagai faktor yang meningkatkan kemampuan fagositosis leukosit polimorfonuklear.

Tabel 1. Aktivitas Fagositosis Leukosit Polimorfonuklear (bakteri/sel PMN) Tikus Percobaan Terhadap *Staphylococcus aureus*

Aktifitas Fagositosis Leukosit PMN (bakteri/sel PMN)				
Kelompok I	Kelompok II	Kelompok III	Kelompok IV	Kelompok V
17,07 ± 3,28	20,60 ± 5,26	22,13 ± 5,67	24,53 ± 7,93	29,73 ± 5,95
22,33 ± 4,40	22,80 ± 4,55	21,86 ± 5,13	30,47 ± 9,75	22,87 ± 4,82
23,93 ± 5,15	23,00 ± 3,48	28,60 ± 6,63	28,07 ± 12,04	22,47 ± 9,26
x = 21,11 ± 3,59 <sup>a</sup>	x = 22,13 ± 1,33 <sup>a</sup>	x = 24,20 ± 3,82 <sup>a</sup>	x = 27,69 ± 2,99 <sup>b</sup>	x = 25,02 ± 4,08 <sup>a</sup>

Keterangan:

- a = tidak ada perbedaan ( $p > 0,05$ ) dibanding kelompok I (kontrol) dan kelompok II
- b = ada perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) dibanding kelompok I (kontrol) dan kelompok II
- Kelompok I = tikus diberi diet pakan dasar
- Kelompok II = tikus diberi diet pakan dasar dengan tambahan lemak babi 5%
- Kelompok III = tikus diberi diet pakan dasar dengan tambahan lemak babi 5% dan jus mengkudu 3,2 ml
- Kelompok IV = tikus diberi diet pakan dasar dengan tambahan lemak babi 5% dan jus mengkudu 3,6 ml
- Kelompok V = tikus diberi diet pakan dasar dengan tambahan lemak babi 5% dan jus mengkudu 4,0 ml

Proses fagositosis dipengaruhi oleh keadaan fisik dan kimiawi dari fagosit maupun partikel asing. Faktor terpenting yang berpengaruh terhadap fagositosis adalah komponen humoral yang disebut opsonin dari komplemen. Opsonin adalah komponen dari serum darah yang merupakan senyawa protein, bekerja dengan cara menyelimuti permukaan partikel asing dan mengubahnya agar menjadi lebih mudah untuk difagositosis. Komplemen bekerja dengan cara meningkatkan efek dari opsonin spesifik, menstimulasi kemampuan fagosit membunuh bakteri berkapsul dan mengaktifkan serine proesterase yang akan memacu kemotaksis sel neutrofil mencapai partikel asing (Coles, 1986).

Buah mengkudu mengandung zat-zat antibakteri dan senyawa polisakarida yang mampu meningkatkan aktifitas fagositosis sel darah putih, termasuk sel-sel polimorfonuklear (Hall, 1997). Zat-zat yang berkhasiat sebagai antibakteri yang terdapat dalam buah mengkudu antara lain adalah *alizarine*, *acubin*, *L. asperulocide* dan *anthraquinon*. Zat-zat ini mampu membunuh bermacam-macam bakteri termasuk bakteri *Staphylococcus aureus* (Hembing, 2001). Dalam tubuh hewan, zat-zat antibakteri akan ikut bersama buah mengkudu saat mengkudu diabsorpsi dalam usus dan

masuk ke sistem peredaran darah. Bila dalam darah terdapat bakteri, maka bakteri tersebut akan dibunuh atau dilemahkan oleh zat antibakteri yang terdapat dalam darah, sehingga bakteri akan lebih mudah untuk difagositosis (Hembing, 2001).

Pada penelitian ini, uji aktivitas fagositosis secara *in vitro*, dengan menggunakan sel darah putih yang telah dipisahkan secara sentrifugasi, zat antibakteri yang berasal dari buah mengkudu berperan dalam meningkatkan aktivitas fagositosis polimorfonuklear leukosit. Kandungan zat dalam buah mengkudu yang diduga mampu menstimulasi peningkatan aktivitas fagositosis pada pengujian secara *in vitro* kemungkinan adalah senyawa polisakarida. Dalam ekstrak buah mengkudu senyawa polisakarida berperan sebagai modulator dan stimulator sistem pertahanan tubuh untuk menghasilkan opsonin dan komplemen sehingga mampu meningkatkan kinerja sistem pertahanan tubuh dalam melawan invasi agen asing yang masuk ke dalam tubuh. Senyawa-senyawa polisakarida yang terdapat dalam ekstrak mengkudu tersebut antara lain adalah asam glukoronat, galaktosa, arabinosa, rhamnosa, dan senyawa-senyawa glikosida (Anonim, 2002).

Hall (1997) melaporkan bahwa dalam ekstrak mengkudu terdapat polisakarida *6-D-glycopyranose pentaacetate* yang mampu meningkatkan kemampuan sistem kekebalan tubuh untuk memproduksi senyawa kimia, seperti opsonin dan komplemen, yang berfungsi untuk meningkatkan kemampuan fagositosis sel darah putih, termasuk di dalamnya sel polimorfonuklear. Disebutkan pula bahwa ekstrak mengkudu dapat meningkatkan kerja sitokin sehingga komunikasi antar sel pertahanan tubuh menjadi lebih baik. Komunikasi antar sel pertahanan tubuh yang baik tersebut akan meningkatkan kinerja sistem pertahanan tubuh menjadi lebih baik (Hall, 1997). Zimmerman (1999), juga melaporkan bahwa kandungan senyawa-senyawa polisakarida dalam tanaman obat mampu membantu peningkatan sistem kekebalan tubuh, antara lain meningkatkan kemotaksis dan aktivitas fagositosis leukosit polimorfonuklear.

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak mengkudu dengan dosis 3,6 ml/200gr BB pada tikus memberikan efek berupa peningkatan aktivitas fagositosis leukosit polimorfonuklear dalam memfagosit bakteri *Staphylococcus aureus*. Pemberian ekstrak buah mengkudu dengan dosis 3,2 ml/200gr BB dan 4,0 ml/200gr BB memperlihatkan aktivitas fagositosis yang lebih rendah bila dibandingkan dengan dosis 3,6 ml/200gr BB, kemungkinan disebabkan karena pada pemberian ekstrak mengkudu dengan dosis 3,2 ml/200 gr BB kurang mencukupi untuk menstimulasi peningkatan aktivitas fagositosis leukosit polimorfonuklear secara maksimal, sedangkan pada pemberian ekstrak mengkudu dengan dosis 4,0 ml, dosis yang diberikan untuk tikus terlalu banyak. Pemberian ekstrak mengkudu yang terlalu banyak mengakibatkan lambung tikus akan

penuh (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988), sehingga kemungkinan absorpsi zat-zat aktif mengkudu dalam sistem pencernaan tubuh tikus tidak sempurna.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian pakan dasar dengan lemak babi 5% pada tikus tidak berpengaruh terhadap aktivitas fagositosis leukosit polimorfonuklear yang dilakukan secara *in vitro*. Pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 3,6 ml/200gr BB pada tikus yang diberi diet lemak babi 5% dapat meningkatkan aktivitas fagositosis leukosit polimorfonuklear secara bermakna ( $P < 0,05$ ).

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada DIKTI yang telah membiayai penelitian ini. Penelitian ini merupakan sebagian hasil penelitian Lomba Karya Inovatif Produktif (LKIP) dan mendapat kejuaraan dalam Program Kreatifitas Mahasiswa Penulisan Ilmiah (PKMI) dalam Pekan Ilmiah Nasional (PIMNAS XVII) di Bandung tahun 2004.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2002. *Chemical Constituents of Noni (Morinda citrifolia)*. Collage of Tropical Agriculture and Human Resource. [www.ctahr.hawaii.edu](http://www.ctahr.hawaii.edu)
- Benjamin, M. 1978. *Outline of Veterinary Clinical Pathology*. The Iowa State University Press. Yogyakarta. pp. 223-233.
- Coles, E. H. 1986. *Veterinary Clinical Pathology*. 4<sup>th</sup> edition. W.B. Saunders Company. Philadelphia. London-Toronto. pp. 64-69.
- Hall, S. 1997. *Phytochemicals Reverse Cancer*. [www.noniran.8m.com](http://www.noniran.8m.com).

- Hembing, H. M. 2001. *Sehat dengan Mengkudu/Pace*.  
[www.infomengkudu.com](http://www.infomengkudu.com).
- Hulthe, J., Wikstrand, J., and Fagerberg, B. 2002. *Circulating ICAM-1 (Intercellular Cell-Adhesion Molecule 1) is Associated with Early Stages of Atherosclerosis Development and with Inflammatory Cytokines in Healthy 58-year-old-Man: the Atherosclerosis and Insulin Resistance (AIR) Study*. The Biochemical Society and the Medical Research Society.  
[www.portlandpress.co.uk](http://www.portlandpress.co.uk).
- Salasia, S. I. O. 1994. *Untersuchungen zu Mutmaßlichen Pathogenitätsfaktoren von Streptococcus suis*. Vet. Med. Diss. Justus Liebig-Universität Gießen.
- Setyarso, A. dan B. Mardawa. 1985. *Metode Statistik untuk Analisa dan Perencanaan Kehutanan. Proyek Pengaturan Perencanaan Kehutanan*. Yogyakarta. hal. 64-67.
- Sibuea, P. 2000. *Mengenal Buah Mengkudu*.  
[www.infomengkudu.com](http://www.infomengkudu.com).
- Smith, J. B. dan Mangkoewidjojo, S. 1988. *Pemeliharaan, Pengembangan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Universitas Indonesia Press. Jakarta. hal. 21-32.
- Srati, N. 1991. *Efek Hipolikemik Perasan Air Buah Pace (Morinda citrifolia L) pada Tikus Putih Jantan*. Skripsi Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta.
- Zimmerman, M. 1999. *Immune Enhancers*.  
[www.exchange.healthwell.com](http://www.exchange.healthwell.com)