

## Immunostimulant Effect of Limpasu (*Baccaurea lanceolata*) Fruit Extract and Its Fractions in Male Mice

Rizka M. Miranti\*, Tuty Mulyani, and Siti Nashihah

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Banjarmasin, Kalimantan Selatan, Indonesia

### Abstract

Limpasu is a typical Kalimantan plant found in the Meratus mountains and is empirically used to treat COVID-19. Limpasu fruit contains phenolic and flavonoid compounds that have been shown to exhibit antioxidant and antibacterial activities, but trials as an immunomodulator have not been reported. This study aimed to evaluate the immunomodulatory activity of the ethanol extract of limpasu fruit (EEBL) and its ethyl acetate fraction (FEA) and water fraction (FA) at doses of 250 and 500 mg/kgBW. Extraction was carried out by maceration with 70% ethanol, and fractionation was performed using n-hexane, ethyl acetate, and water. Immunomodulatory activity was assessed through the carbon clearance test, antibody titer assay, and delayed-type hypersensitivity (DTH) test. EEBL and FEA demonstrated potent immunostimulatory activity in the carbon clearance test, while FA showed mild stimulation. All treatment groups showed higher primary antibody titers than the control, but only EEBL showed an increase in secondary antibody titer. All samples enhanced footpad thickness at T24–T48, indicating stimulation of cellular immune responses. Taken together, EEBL exhibited the most consistent immunomodulatory activity across nonspecific, specific, and cellular immune parameters.

**Keywords:** antioxidant, immunomodulator, limpasu

## Efek Immunostimulan Ekstrak dan Fraksi dari Buah Limpasu (*Baccaurea lanceolata*) pada Mencit Jantan

### Abstrak

Limpasu merupakan tanaman khas Kalimantan yang ditemukan di pegunungan Meratus dan secara empiris digunakan untuk membantu mengobati COVID-19. Buah limpasu mengandung senyawa fenol dan flavonoid yang telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri, namun uji coba sebagai imunomodulator belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas imunomodulator ekstrak etanol buah limpasu (EEBL) serta fraksi etil asetat (FEA) dan fraksi air (FA) pada dosis 250 dan 500 mg/kgBB pada hewan. Buah limpasu diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi dan difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Pengujian imunomodulator dilakukan menggunakan metode uji bersihan karbon untuk menggambarkan aktivitas respon imun non spesifik, uji titer antibodi untuk menggambarkan aktivitas respon imun spesifik dan uji hipersensitivitas tipe lambat untuk menggambarkan respon imun seluler. Hasil uji bersihan karbon pada kelompok EEBL dan FEA menunjukkan aktivitas imunostimulan kuat, sedangkan kelompok FA menunjukkan hasil imunostimulan ringan. Hasil uji titer antibodi primer menunjukkan kelompok yang diberi zat uji memiliki angka titer antibodi lebih tinggi dibandingkan kontrol, namun hanya kelompok EEBL yang mengalami peningkatan angka titer antibodi sekunder. Selanjutnya, EEBL, FEA dan FA menyebabkan peningkatan tebal kaki mencit. Secara keseluruhan, hanya EEBL yang menunjukkan aktivitas imunostimulan berdasarkan respon imun non spesifik, spesifik dan seluler.

**Kata Kunci:** antioksidan, imunomodulator, limpasu

### Article History:

Submitted 19 January 2024

Revised 20 January 2026

Accepted 08 February 2026

Published 28 February 2026

\*Corresponding author:

[rizkamulyamiranti@umbjm.ac.id](mailto:rizkamulyamiranti@umbjm.ac.id)

### Citation:

Miranti RM, Mulyani T, Nashihah S. Immunostimulant Effect of Limpasu (*Baccaurea lanceolata*) Fruit Extract and Its Fractions in Male Mice. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2026; 13 (1), 25-31.

## 1. Pendahuluan

Sistem imun didefinisikan sebagai jaringan pertahanan vital yang dirancang untuk melawan dan menyingkirkan sel-sel abnormal atau berbagai agen eksternal yang dapat membahayakan, termasuk virus, bakteri, jamur, atau zat asing lain yang memasuki tubuh. Imunomodulator merupakan zat yang dapat memodulasi sistem imun dalam bentuk imunostimulan dan immunosupresan. Imunostimulan yaitu zat yang dapat merangsang sistem imun sedangkan immunosupresan dapat digunakan untuk menekan sistem imun.

Sistem imun terdiri dari 2 kelompok, yaitu sistem imun non spesifik dan sistem imun spesifik. Respon imun non-spesifik biasa disebut dengan kekebalan alami (*natural immunity/native immunity*) merupakan lini pertama yang selalu ada pada setiap orang sehat dan berperan dalam penghambatan masuknya mikroorganisme serta dengan cepat mengeliminasi mikroorganisme yang lolos ke jaringan inang.<sup>1</sup> Sistem imun spesifik (*adaptive immunity*) mampu mengenal antigen, paparan pertama menimbulkan sensitisasi sehingga apabila antigen yang sama masuk tubuh akan dikenali lebih cepat dan akan dihancurkan.

Sistem imun spesifik terbagi atas dua yaitu sistem imunitas humoral dimana antibodi akan dilepaskan oleh sel B yang akan memusnahkan bakteri ekstraseluler dan sistem imunitas seluler dimana sistem imun ini akan mengaktifkan CTC/Tc yang mampu menghancurkan sel yang telah terinfeksi yang memerlukan sel T untuk mengaktifkan makrofag yang bertugas sebagai efektor untuk menghancurkan mikroba.<sup>2</sup> Pada kondisi tertentu sistem imun dapat terganggu sehingga tubuh tidak mampu melawan zat asing tersebut dan menimbulkan penyakit atau gangguan kesehatan. Untuk itu diperlukan suatu imunomodulator yang dapat berasal dari tanaman salah satunya adalah buah Limpasu.

Limpasu merupakan tanaman khas Kalimantan yang terdapat di pegunungan Meratus dan secara empiris telah banyak digunakan oleh suku Dayak Meratus untuk perawatan kecantikan kulit dan wajah, selain itu buah limpasu juga biasa digunakan untuk obat demam.<sup>3</sup> Bagian tanaman lain yang biasa digunakan adalah daun yaitu sebagai obat sakit kepala dan sakit perut, akar sebagai penambah stamina.<sup>4</sup> Bagian tanaman lainnya yang biasa digunakan adalah daunnya yaitu sebagai obat sakit kepala dan sakit perut, akarnya sebagai penambah stamina.<sup>3,4</sup>

Buah limpasu dimanfaatkan secara luas oleh publik sebagai alternatif terapi atau pencegah COVID-19 di tengah masa pandemi. Kepopulerannya didukung oleh faktor harga jual yang rendah dan kemudahan

akses untuk mendapatkannya. Hal ini didukung oleh pengalaman empiris warga desa Papagaran yang mengkonsumsi buah limpasu merasakan gejala Covid-19 lebih cepat hilang.<sup>5</sup>

Buah limpasu dilaporkan mengandung senyawa antioksidan seperti fenol, flavonoid, antosianin, dan karotenoid.<sup>6</sup> Studi lain melaporkan adanya kandungan vitamin C pada buah limpasu yang sudah umum diketahui memiliki aktivitas antioksidan.<sup>7</sup> Ada hubungan erat antara antioksidan dan sistem kekebalan tubuh. Banyak penelitian yang membuktikan bahwa pemberian antioksidan dapat menstimulasi dan melindungi sistem imun seluler. Antioksidan memiliki kemampuan untuk memodulasi komponen sistem imun seperti peningkatan proliferasi limfosit, optimasi aktivitas fagositik makrofag dan proteksi sel imun dari kerusakan oksidatif yang diinduksi oleh *reactive oxygen species* (ROS).<sup>8</sup> Flavonoid termasuk senyawa alami yang berpotensi besar dalam memodulasi sistem imun melalui efek antiinflamasi dan pengaturan respons imun adaptif.<sup>9,10</sup> Flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas pencegahan dan pengobatan SARS-Cov-2.<sup>11</sup>

Studi aktivitas buah limpasu masih terbatas pada aktivitas antioksidan dan antibakteri namun potensi sebagai imunomodulator belum dieksplorasi secara ilmiah. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi potensi buah limpasu sebagai imunomodulator sebagai landasan untuk pengembangan imunomodulator alami. Fraksinasi dan skrining fitokimia diharapkan dapat memperoleh gambaran senyawa-senyawa yang berperan dalam aktivitas imunomodulator.

## 2. Bahan dan Metode

### 2.1. Alat

Alat yang digunakan yaitu corong pisah, sonde mencit, inkubator (Mettler), blender (Miyako), dan spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific).

### 2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah Limpasu yang diperoleh dari pegunungan Meratus wilayah Hulu Sungai Tengah, Kalimantan Selatan. Bahan lain yang digunakan antara lain etanol p.a (Smart-Lab), akuades (Brataco), etil asetat p.a (Smart-Lab), n-heksana p.a (Smart-Lab), Stimuno® sirup (mengandung ekstrak herba *Phyllanthus niruri* L), natrium klorida (NaCl) fisiologis 0,9% (PT. Widarta Bhakti), darah kambing, natrium karboksimetil selulosa (CMC-Na) (Brataco), tinta pelikan 4001, dan 96-well plate.

### 2.3. Prosedur

#### 2.3.1. Perlakuan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan galur Balb-c usia 1-2 bulan dengan bobot tubuh berkisar antara 20–35 gram. Jumlah total hewan uji yang digunakan dihitung menggunakan rumus Federer, yaitu sebanyak 96 ekor mencit. Hewan uji dibagi untuk tiga parameter pengujian yang berbeda: uji bersihan karbon, uji titer antibodi, dan uji hipersensitivitas tipe lambat. Setiap parameter pengujian menggunakan kelompok mencit yang berbeda, dengan masing-masing parameter memerlukan 32 ekor mencit. Untuk setiap parameter pengujian, hewan uji dibagi menjadi 8 kelompok dengan 4 ekor mencit per kelompok. Kelompok perlakuan tersebut meliputi kelompok kontrol, kelompok pembanding menggunakan Stimuno® dosis 65 mg/kgBB, kelompok perlakuan ekstrak buah limpasu dosis 250 mg/KgBB, kelompok perlakuan ekstrak buah limpasu dosis 500 mg/kgBB, kelompok perlakuan fraksi etil asetat buah limpasu dosis 250 mg/kgBB, kelompok perlakuan fraksi etil asetat buah limpasu dosis 500 mg/kgBB, kelompok perlakuan fraksi air buah limpasu dosis 250 mg/kgBB, kelompok perlakuan fraksi air buah limpasu dosis 500 mg/kgBB.

Sebelum perlakuan, seluruh hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari di Laboratorium Farmakologi, Universitas Muhammadiyah Banjarmasin. Selama proses aklimatisasi dan perlakuan, hewan uji dipelihara dalam kandang yang bersih dan ditempatkan pada kondisi lingkungan yang terkontrol. Hewan uji diberi pakan standar mencit dan air minum secara *ad libitum*. Kondisi lingkungan diatur pada suhu kamar terkontrol dengan siklus terang-gelap (12 jam terang, 12 jam gelap). Sanitasi kandang dan penggantian alas kandang dilakukan secara teratur (minimal setiap dua hari sekali) untuk menjaga kebersihan dan kesehatan hewan, sesuai dengan prinsip etika penggunaan hewan coba.<sup>12</sup> Pengujian aktivitas imunomodulator pada hewan uji telah disetujui komisi etik Universitas Muhammadiyah Banjarmasin dengan nomor sertifikat 303/UMB/KE/X/2022.

#### 2.3.2. Pembuatan Ekstrak dan Fraksi Buah Limpasu

Sebanyak 30 kg buah limpasu segar dicuci bersih, diiris tipis, dan dikeringkan pada suhu ruang. Simplisia yang telah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 40 mesh.<sup>13</sup> Ekstraksi serbuk buah limpasu dilakukan melalui metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan rasio serbuk sampel dan pelarut 1:10 v/v.<sup>13</sup> Filtrat hasil maserasi disaring dan dipekatkan menggunakan penangas air pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Ekstrak kental dilarutkan dalam metanol, kemudian dilakukan fraksinasi bertahap menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan pelarut n-heksana dan etil asetat; proses ini dilakukan sebanyak tiga kali untuk setiap pelarut, dengan perbandingan volume fase air dan fase organik 1:1 v/v. Setiap fraksi dipekatkan menggunakan penangas air pada suhu 40°C hingga diperoleh fraksi kental.

#### 2.3.3. Preparasi Antigen Sel Darah Merah Kambing (SDMK)

Uji titer antibodi diawali dengan pembuatan antigen SDMK dengan cara mengambil 5 ml darah kambing dikumpulkan dan dicampur secara homogen dengan NaCl fisiologis (1:1). Untuk memisahkan komponen, campuran di sentrifugasi pada 2000 rpm selama 15 menit, lalu supernatan dibuang. SDMK dicuci menggunakan salin (NaCl) fisiologis dalam dua kali sentrifugasi tambahan, sehingga total proses sentrifugasi dilakukan tiga kali untuk memastikan pencucian sempurna.<sup>14</sup>

#### 2.3.4. Uji Bersihan Karbon

Setiap kelompok diberikan perlakuan secara oral satu kali sehari selama tujuh hari. Pada hari ke-8, sebelum disuntikkan suspensi karbon, diambil sampel darah awal (T0) sebanyak 25 µL melalui vena ekor yang dipotong. Setelah itu, hewan uji diinjeksi suspensi karbon koloid dalam gelatin melalui vena pada ekor mencit dengan dosis 0,1 mL/10 g BB mencit. Pengambilan sampel darah sebanyak 25 µL melalui vena ekor yang dipotong pada menit ke-5 (T5) dan menit ke-15 (T15) setelah injeksi karbon. Setiap sampel darah tersebut ditambahkan 4 mL asam asetat 0,1% dan dibaca nilai absorbansinya pada panjang gelombang 650 nm.

Nilai bersihan karbon dihitung dengan menggunakan persamaan berikut (K):  $(\log OD1 - \log OD2)/15$ , dengan OD1 dan OD2 adalah absorbansi pada 5 dan 15 menit. Indeks fagositik dihitung menggunakan perbandingan K sampel terhadap K kontrol. Klasifikasi aktivitas imunomodulator menurut Wagner yakni: imunosupresif jika indeks fagositik < 1; imunostimulan ringan jika 1-1,5; Imunostimulasi kuat jika > 1,5.<sup>15</sup>

#### 2.3.5. Uji Titer Antibodi

Uji aktivitas imunostimulan dilakukan dengan memberikan perlakuan selama 13 hari. Pada hari ke-3 dan ke-9, mencit diberikan suspensi SDMK secara intraperitoneal (0,1 ml/10 g BB mencit). Pada hari ke-8 dan ke-14 pengambilan sampel darah dilakukan melalui vena ekor mencit sebanyak 0,5 mL darah.<sup>16</sup> Darah tersebut dimasukkan ke dalam mesin

sentrifugasi dan diputar dengan kecepatan 3000 putaran per menit selama 10 menit. Lapisan atas yang transparan yang disebut serum kemudian diambil dan dipanaskan pada suhu 56°C menggunakan alat pemanas selama 30 menit. Setelah mencapai suhu ruangan, serum siap untuk diuji.

Setiap serum diuji hemaglutinasinya dengan penambahan antigen SDM 2%. Pelat sumur dalam kolom 2-12 (pengenceran 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024 dan 1/2048) masing-masing mendapat 50 µL NaCl pH 7,2. Sebanyak 100 µL serum darah mencit ditambahkan pada kolom pertama *microplate*. Pengenceran serial dilakukan sebanyak dua kali lipat dengan memindahkan 50 µL serum dari kolom pertama ke kolom 2, lalu dihomogenkan. Prosedur ini diulang secara berurutan hingga kolom terakhir, sehingga diperoleh pengenceran bertingkat (seri). Setelah dihomogenkan, 50 µL dari kolom terakhir dibuang untuk mempertahankan volume yang sama pada semua kolom. Setiap kolom yang telah terisi serum terencer kemudian ditambahkan 50 µL suspensi SDM 2%, sehingga total volume campuran pada setiap kolom menjadi 100 µL. Masing-masing sumuran diinkubasi pada suhu 37° selama 1 jam, dan dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu kamar selama 24 jam untuk mengamati adanya aglutinasi.

Data yang dikumpulkan merupakan titik pengenceran tertinggi di mana reaksi aglutinasi masih dapat teramati. Untuk memungkinkan analisis statistik, nilai pengenceran observasi tersebut selanjutnya dikonversi menggunakan rumus spesifik untuk memperoleh angka titer. Angka titer dihitung dengan persamaan  $[2 \log (\text{titer}) + 1]$ .<sup>17</sup>

### 2.3.6. Uji Hipersensitivitas Tipe Lambat

Pada hari ke-0 semua mencit di diberikan suspensi antigen SDM 2% dengan dosis 0,1 mL/10 gr BB mencit secara intraperitoneal. Mencit diberi perlakuan sesuai kelompok selama 8 hari secara peroral sesuai

kelompok. Telapak kaki mencit diukur menggunakan jangka sorong (T0) pada hari kedelapan, lalu diberikan suspensi antigen SDM 2% sebanyak 0,05 mL secara intraplantar pada kaki mencit. Pada jam ke-24 (T24) dan jam ke-48 (T48), ketebalan kaki mencit diukur kembali menggunakan jangka sorong.<sup>18</sup>

### 2.3.7. Analisis Data

Pengolahan data statistik dengan SPSS dimulai dengan pengujian asumsi, yakni normalitas (Shapiro–Wilk) dan homogenitas varians (Levene), sebagai prasyarat uji komparatif. Data yang parametrik (normal dan homogen) dianalisis menggunakan *one way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *post-hoc* jika terdapat perbedaan signifikan. Sebaliknya, data yang non-parametrik (tidak normal atau tidak homogen) diuji menggunakan Kruskal–Wallis, diikuti oleh uji Mann–Whitney untuk perbandingan lebih lanjut apabila hasil Kruskal–Wallis menunjukkan perbedaan yang bermakna.<sup>19</sup>

## 3. Hasil

### 3.1. Ekstrak dan fraksi

Hasil maserasi menghasilkan ekstrak etanol kental buah limpasu sebanyak 437 gram. Fraksi yang digunakan pada penelitian ini hanya fraksi etil asetat dan fraksi air dikarenakan fraksi n-heksan yang diperoleh dari 200 gram ekstrak etanol hanya sebesar 0,3 gram, sehingga tidak mencukupi untuk digunakan pada uji aktivitas imunomodulator.

### 3.2. Aktivitas imun non spesifik buah limpasu

Hasil uji indeks fagositosis menunjukkan seluruh kelompok bahan uji mempunyai aktivitas imunostimulan. Konstanta fagositosis tertinggi ditunjukkan oleh kelompok sirup Stimuno® yang mengandung ekstrak *Phyllanthus niruri* yang telah

**Tabel 1.** Aktivitas Fagositik Mencit setelah Pemberian Sediaan Uji

| Perlakuan | Dosis<br>(mg/kg BB) | Absorbansi±SD |               | K        | Indeks Fagositik | Klasifikasi |
|-----------|---------------------|---------------|---------------|----------|------------------|-------------|
|           |                     | 5 menit       | 15 menit      |          |                  |             |
| Kontrol   |                     | 0,6803±0,1640 | 0,6438±0,1584 | 0,0016   | 1                | -           |
| Stimuno®  | 65                  | 0,5970±0,1334 | 0,5035±0,1121 | 0,0049*  | 3,0305           | Kuat        |
| EEBL      | 250                 | 0,6145±0,0200 | 0,5530±0,220  | 0,0031*  | 1,8934           | Kuat        |
|           | 500                 | 0,6120±0,0513 | 0,5208±0,0454 | 0,0047*  | 2,8996           | Kuat        |
| FEA       | 250                 | 0,6950±0,0431 | 0,6350±0,0331 | 0,0026*# | 1,5709           | Kuat        |
|           | 500                 | 0,6418±0,0733 | 0,5595±0,0884 | 0,0041*  | 2,5480           | Kuat        |
| FA        | 250                 | 0,6470±0,1402 | 0,6025±0,1291 | 0,0021#  | 1,2738           | Ringan      |
|           | 500                 | 0,6648±0,1108 | 0,6163±0,1085 | 0,0022#  | 1,3843           | Ringan      |

Keterangan: Pengujian statistik : \*p<0,05 dibandingkan kelompok kontrol; #p<0,05 dibandingkan kelompok pembanding; EEBL: Ekstrak Etanol Buah Limpasu; FEA: Fraksi Etil Asetat; FA: Fraksi Air; n=4 ekor mencit

**Tabel 2.** Hasil Titer Antibodi Primer dan Sekunder pada Mencit

| Perlakuan | Dosis (mg/Kg) | Titer Antibodi±SD |             |
|-----------|---------------|-------------------|-------------|
|           |               | Primer            | Sekunder    |
| Kontrol   |               | 3,66±1,03         | 5,32±0,35   |
| Stimuno®  | 65            | 5,17±0,58*        | 5,62±0,00   |
| EEBL      | 250           | 4,56±0,31*        | 5,02±0,49   |
|           | 500           | 4,41±0,49         | 4,56±0,31   |
| FEA       | 250           | 3,81±0,85#        | 3,81±1,20*# |
|           | 500           | 4,56±0,31*        | 3,51±1,43*# |
| FA        | 250           | 4,41±0,49         | 3,96±0,90*# |
|           | 500           | 4,11±0,35#        | 3,81±1,10*# |

Keterangan: Pengujian statistik : \* $p < 0,05$  dibandingkan kelompok kontrol; # $p < 0,05$  dibandingkan kelompok pembanding; EEBL: Ekstrak Etanol Buah Limpasu; FEA: Fraksi Etil Asetat; FA: Fraksi Air; n=4 ekor mencit

terbukti secara ilmiah sebagai imunomodulator yang efektif, baik pada pengujian *in vivo* dan klinik pada manusia. Mekanisme kerjanya meliputi peningkatan fagositosis makrofag, penambahan antibodi, dan pengurangan inflamasi. Dari ketiga bahan uji, kelompok ekstrak buah limpasu 500 mg/kgBB menunjukkan laju konstanta fagositosis tertinggi, disusul kelompok fraksi etil asetat 500 mg/kgBB. Konstanta fagositosis paling rendah terdapat pada kelompok fraksi air 250 mg/kgBB. Hasil uji statistik dengan uji T menunjukkan konstanta fagositosis ekstrak buah limpasu dan fraksi etil asetat dosis 250 dan 500 mg tidak berbeda nyata dengan kelompok yang diberi sirup Stimuno®. Pemberian dosis yang sama antara ekstrak dan fraksi dilakukan untuk memudahkan perbandingan potensi biologis pada beban dosis yang setara, sehingga memudahkan perbandingan langsung efektivitas imunomodulator. Indeks fagositosis dapat dilihat pada Tabel 1.

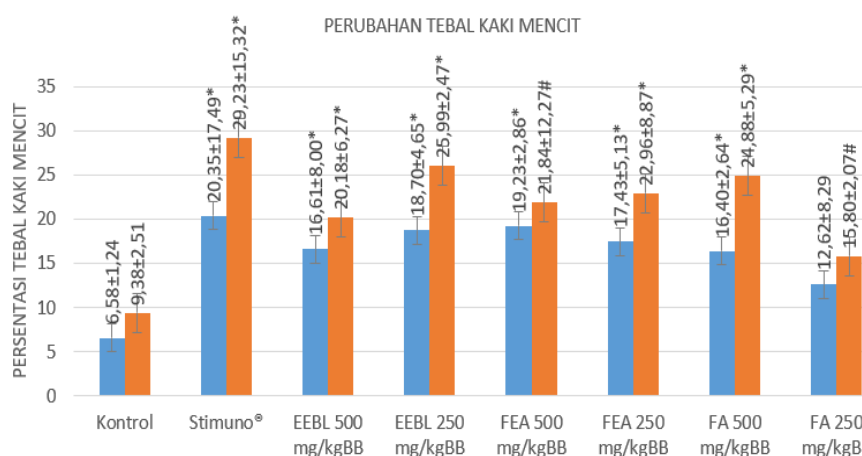
### 3.3. Aktivitas imun spesifik

Penilaian aktivitas imun spesifik buah limpasu dilakukan melalui pengukuran titer antibodi. Aktivitas

imunostimulan dapat dilihat dari hemaglutinasi antara antigen dengan antibodi yang terbentuk. Terlihatnya aglutinasi merupakan hasil dari pembentukan struktur padat tiga dimensi berukuran besar. Formasi ini dipicu oleh reseptor antibodi yang berhasil mengikat antigen dan menciptakan ikatan silang atau jembatan antar molekul antigen, yang kemudian saling terhubung secara berulang.<sup>20</sup> Hasil uji titer antibodi dapat dilihat pada Tabel 2.

### 3.4. Aktivitas imun seluler buah limpasu

Aktivitas imunostimulan pada uji hipersensitivitas tipe lambat ditandai dengan adanya pembengkakan pada kaki mencit yang diberi antigen SDM 2% yang lebih besar dibanding kelompok kontrol. Hasil uji hipersensitivitas tipe lambat dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil uji menunjukkan ekstrak dan fraksi ekstrak buah limpasu memiliki aktivitas imunostimulan namun aktivitasnya masih lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Adanya perubahan peningkatan persentase tebal kaki, menunjukkan adanya aktivitas sel T dan makrofag pada lokasi injuri setelah injeksi antigen SDM 2%.



**Gambar 1.** Perubahan Tebal Kaki Mencit pada Uji Hipersensitivitas Tipe Lambat

Keterangan: Pengujian statistik : \* $p < 0,05$  dibandingkan kelompok kontrol; # $p < 0,05$  dibandingkan kelompok pembanding; EEBL: Ekstrak Etanol Buah Limpasu; FEA: Fraksi Etil Asetat; FA: Fraksi Air; (n=4; data ditampilkan sebagai rerata ± SD)



#### 4. Pembahasan

Aktivitas imun non spesifik buah limpasu diketahui melalui uji bersihan karbon dengan menentukan indeks fagositik. Fagositosis berperan penting dalam menghilangkan patogen yang masuk ke dalam tubuh. Karbon sebagai zat asing diberikan secara intravena untuk mengetahui aktivitas fagositik sel makrofag terhadap karbon yang beredar dalam darah. Nilai konstanta fagositosis (K) menunjukkan kecepatan proses fagositosis, sedangkan nilai indeks fagositosis menunjukkan besarnya aktivitas fagositosis sel fagosit terhadap partikel karbon yang dianggap antigen.<sup>21</sup> Semakin tinggi nilai indeks fagositik, maka aktivitas imunostimulan juga semakin kuat.<sup>22</sup>

Nilai indeks fagositosis kelompok perlakuan yang diberi ekstrak dan fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas imunostimulan kuat, sedangkan pada fraksi air menunjukkan aktivitas imunostimulan ringan. Fraksi etil asetat memiliki kadar flavonoid total tertinggi dibandingkan ekstrak dan fraksi air.<sup>23</sup> Flavonoid bekerja dengan merangsang sekresi sitokin proinflamasi (IL-1 dan IL-6) untuk meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag dalam sistem imun.<sup>24</sup> Peningkatan dosis menunjukkan peningkatan aktivitas sebagai imunostimulan.

Metode titer antibodi digunakan untuk menentukan seberapa besar antibodi yang terbentuk akibat paparan antigen (SDMK). Antigen yang masuk ke dalam tubuh mencit akan memicu sistem imunitas tubuh dengan melibatkan sel B untuk melepas antibodi yang bersirkulasi dalam darah dan mengikat antigen. Rangsangan antigen pertama merangsang sel B untuk memproduksi IgM (antibodi primer) dan rangsangan ulangan antigen yang sama akan sel B ke produksi IgG (antibodi sekunder) dengan kadar yang lebih besar dari respon primer.

Nilai titer antibodi kelompok uji ekstrak dan fraksi ekstrak buah limpasu tidak berbeda signifikan dengan nilai titer antibodi kelompok kontrol. Semakin besar nilai titer antibodi menunjukkan aktivitas imunostimulan yang semakin tinggi. Hal ini disebabkan karena adanya pembentukan antibodi yang spesifik terhadap antigen. Titer antibodi sekunder pada kelompok yang diberi kontrol positif dan ekstrak etanol buah limpasu lebih besar dibandingkan titer antibodi primernya sedangkan titer antibodi sekunder pada kelompok fraksi etil asetat dan fraksi air mengalami penurunan dibandingkan dengan titer antibodi primer. Perbedaan respons imun yang muncul dapat dipengaruhi oleh variasi kandungan senyawa aktif dan mekanisme kerja masing-masing fraksi.

Reaksi hipersensitivitas tipe lambat merupakan

respons imun selular yaitu respon imun yang dipicu oleh antigen spesifik sel T yang dapat di induksi oleh alergen (SDMK). Dalam mekanismenya yang diaktivasi sel T, respon DTH masuk kedalam hipersensitivitas tipe IV karena CD4<sup>+</sup> sel T merespon antigen yang masuk dengan menghasilkan sitokin yang dapat menstimulasi terjadinya inflamasi yang mengaktifkan fagositosis dan menyebabkan kerusakan jaringan.<sup>1</sup>

Pada pengujian kadar flavonoid total dari penelitian sebelumnya menunjukkan kadar flavonoid tertinggi ada pada fraksi etil asetat dibandingkan dengan fraksi air maupun ekstrak.<sup>22</sup> Hasil uji aktivitas imunomodulator dari tiga metode yang digunakan menunjukkan ekstrak etanol buah limpasu memiliki aktivitas lebih baik dari fraksi etil asetat maupun fraksi air. Sehingga, diduga kadar flavonoid total tidak berpengaruh terhadap aktivitas imunostimulan. Namun, perbedaan aktivitas tersebut dapat disebabkan karena adanya perbedaan senyawa yang tertarik pada pelarut yang digunakan.

#### 5. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa buah limpasu terbukti memiliki potensi sebagai imunostimulan, dengan ekstrak etanol menunjukkan potensi imunostimulan yang lebih baik dibandingkan bentuk fraksinya. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa aktif dalam buah limpasu bekerja lebih optimal secara sinergis dalam bentuk ekstrak etanol dibandingkan setelah dipisahkan ke dalam fraksi etil asetat maupun fraksi air.

#### Ucapan Terimakasih

Penelitian ini terlaksana atas dukungan finansial dari Kemenristekdikti, khususnya melalui skema Hibah Penelitian Dosen Pemula tahun anggaran 2022. Pemberian dana tersebut disahkan melalui kontrak bernomor 163/E5/PG.02.00.PT/2022.

#### Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa data yang dipublikasikan pada naskah ini tidak ada konflik kepentingan terhadap pihak manapun.

#### Daftar Pustaka

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Basic immunology: functions and disorders of the immune system. 6th ed. Philadelphia: Elsevier; 2020.
2. Baratawidjaja KG, Rengganis I. Immunologi dasar. Edisi XII. Jakarta: Balai Penerbit FK Universitas Indonesia; 2018.
3. Munawaroh E, Astuti IP. Kajian keanekaragaman jenis *Baccaurea* spp., pemanfaatan, potensi dan upaya konservasinya di Kebun Raya Bogor. J Trop Ethnobiol.

- 2021;63–70.
4. Elsi Y, Satriadi T, Istikowati WT. Etnobotani obat-obatan yang dimanfaatkan masyarakat adat Dayak Meratus Desa Ulang Kabupaten Hulu Sungai Selatan Kalimantan Selatan. *J Sylva Scientiae*. 2020;3(1):193–201.
  5. Hikmah N. Etnobotani Kapul (*Baccaurea macrocarpa*) dan Limpasu (*Baccaurea lanceolata*) oleh Suku Dayak dan Suku Banjar di Kabupaten Hulu Sungai Selatan dan Hulu Sungai Tengah [Skripsi]. Banjarbaru: Universitas Lambung Mangkurat; 2022.
  6. Mojulat H, Yuliani, Hadiyanti P, Arung ET. A review on benefits, potential and conservation of *Baccaurea lanceolata*. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2021;736:012042.
  7. Salusu D. Kandungan vitamin C pada tiga jenis buah-buahan genus *Baccaurea*. *Buletin Loupe*. 2020; 16(2):12–6.
  8. Fadhillah AR, Lestari K. Peran antioksidan dalam imunitas tubuh. *Farmaka*. 2023;21(2):171–8.
  9. Khoirunnisa I, Sumiwi SA. Peran flavonoid pada berbagai aktivitas farmakologi. *Farmaka*. 2019;17(2):131–42.
  10. Sabini JH, Susilowati RP, Sari MP. Peran flavonoid sebagai agen imunomodulator: potensi terapeutik dan mekanisme aksi. *J Med Scientiae*. 2025;4(1):1–7.
  11. Alzaabi MM, Hamdy R, Ashmawy NS, Hamoda AM, Alkhayat F, Khademi NN, et al. Flavonoids are promising safe therapy against COVID-19. *Phytochem Rev*. 2022;21(1):291–312.
  12. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Penggunaan dan penanganan hewan coba rodensia dalam penelitian sesuai dengan kesejahteraan hewan. Jakarta; 2016. ISBN: 978-602-6473-03-5.
  13. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia. Edisi 2. Jakarta; 2017. p. 531.
  14. Puspitaningrum I, Franyoto YD, Munisih S. Aktivitas imunomodulator fraksi etil asetat daun som jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.) terhadap respon imun spesifik. *J Ilmu Farm Farm Klin*. 2018;15:48–53.
  15. Fauzi NI, Herawati IE, Sari NK, Fathurrahman MH, Firmansyah A, Ferdiansyah R, et al. Aktivitas imunomodulator regimen isolat mangostin, kurkuminoid, piperin, metil sinamat dan vitamin C dengan metode carbon clearance. *J Insan Farm Indones*. 2024;7(3):356–66.
  16. Sujono TA, Maryati M, Nugraheni AY, Suhendi A, Yanuarsyah FD, Sutrisna E, et al. Immunostimulant effect of combination extract of *Garcinia mangostana*, *Moringa oleifera*, and *Phyllanthus niruri* in mice. *Trop J Nat Prod Res*. 2025;9(5):2159–66.
  17. Purba N, Sari LN, Sihombing YR. Efektivitas imunostimulan ekstrak etanol daun benalu kopi (*Loranthus ferrugineus* Roxb.) pada tikus jantan dengan metode titer antibodi. *J Farm Medistra*. 2020;2(2):91–6.
  18. Prakash VB, Sati ST, Rao YK, Prakash S, Negi N. Immunomodulatory Effects of a Herbo-Mineral Ayurvedic Formulation in Experimental Models. *Cureus*. 2024;16(4):e58913. doi:10.7759/cureus.58913..
  19. Maifitrianti, Sjahid LR, Nuroh, Acepa RAM, Murti WD. Aktivitas Antiinflamasi Fraksi-Fraksi Ekstrak Etanol 95% dari Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) pada Tikus Putih Jantan. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia*. 2019 Jul;16(1):1-16
  20. Siswanti E, Marbun RAT, Siska F, Simanjuntak CC, Akbar K. Uji efektivitas imunomodulator ekstrak etanol buah rimbang (*Solanum torvum* Swartz) terhadap tikus jantan. *J Dunia Farm*. 2022;6(2):84–95.
  21. Dillasamola D, Aldi Y, Fakhri M, Diliarosta S, Oktomalia PB, Noverial. Immunomodulatory effect of *Moringa oleifera* leaf extract using carbon clearance method in male mice. *Asian J Pharm Clin Res*. 2018;11(9):241–245.
  22. Fadhillah A, Parwati AD, Muflihah CH, Wahyuni AS. Immunomodulatory activity of kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) extract in mice. *Pharmacon J Farm Indones*. 2023;20(1):61–6.
  23. Miranti RM, Nashihah S. Skrining fitokimia dan penetapan kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi buah limpasu (*Baccaurea lanceolata* (Miq.) Müll.Arg.). *J Curr Pharm Sci*. 2023;7(1): 652–6.
  24. Winanta A, Bagir H, Febriansah R, Nugraha AT. Immunomodulatory activity of parijoto fruit (*Medinilla speciosa*) fraction. *J Adv Pharm Technol Res*. 2025;16(1):6–11.