

**AKTIVITAS IMUNOMODULASI EKSTRAK ETANOL  
DAUN PILADANG (*Solenostemon scutellarioides* (L.)  
Codd) PADA MENCIT PUTIH JANTAN DENGAN  
METODE *CARBON CLEARANCE***

**SKRIPSI**



Oleh :

**SITI NIRMALA**  
**1604034**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
PADANG  
2020**

## **PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Siti Nirmala  
NIM : 1604034  
Judul Skripsi : Aktivitas Imunomodulasi Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Pada Mencit Putih Jantan Dengan Metode *Carbon Clearance*.

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut kepada Universitas Perintis Indonesia untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis

Padang, 17 September 2020

Siti Nirmala

## Lembar Pengesahan Skripsi

Dengan ini dinyatakan bahwa :

Nama : Siti Nirmala

NIM : 1604034

Judul Skripsi : Aktivitas Imunomodulasi Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Pada Mencit Putih Jantan Dengan Metode *Carbon Clearance*.

Telah diuji dan disetujui skripsinya sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) melalui ujian sarjana yang diadakan pada tanggal 17 September 2020 berdasarkan ketentuan yang berlaku

**Ketua Sidang**

**apt. Revi Yenti, M.Si**

**Pembimbing I**

**Anggota Penguji I**

**apt. Mimi Aria, M.Farm**

**Prof. Dr. apt. Erizal Zaini, M.Si**

**Pembimbing II**

**Anggota Penguji II**

**apt. Sanubari Rela Tobat, M.Farm**

**Drs. B.A Martinus, M.Si**

**Mengetahui :  
Ketua Prodi S1 Farmasi**

**apt. Revi Yenti, M.Si**

## بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

“Sesungguhnya bersama kesulitan pasti ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain) dan hanya kepada Allah hendaknya kamu berharap”  
(Q.S Al Insyirah : 6-8).

Dengan mengucapkan rasa syukur kepada Allah Subhanahuwata'ala atas segala limpahan Rahmat, Ridho dan Karunia-Nya yang begitu besar sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan S1 Farmasi ini.

Teruntuk ibu dan bapak tercinta..

Terima kasih selalu memberikan ketenangan, kenyamanan, motivasi, pengorbanan, nasehat dan doa yang tiada hentinya ibu dan bapak berikan kepada mala selama ini, dukungan dan doa ibu dan bapak adalah kekuatan terdasyat mala dalam menyelesaikan pendidikan ini. kupersembahkan semua ini sebagai tanda bakti, hormat dan rasa kasih sayang mala terhadap ibu dan bapak tercinta.

Teruntuk abang dan kakak (bang asef, bang wasil, ayuk khalidazia, bang yadi, ayuk junikasari ayuk maria dan bang Aan) beserta keluarga besar, terimakasih atas inspirasi, dorongan, dukungan, perhatian dan doa yang sangat berharga sehingga diri ini bersemangat dan kuat dalam menyelesaikan pendidikan ini.

Teruntuk dosen dan staf Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia, terimakasih atas ilmu yang sangat bermanfaat, didikan dan pengalaman yang sangat berarti yang telah diberikan selama ini, teristimewa kepada ibu apt. Mimi Aria, M.Farm dan ibu apt. Sanubari Rela Tobat, M.Farm yang senantiasa meluangkan waktu, pikiran dan tenaga dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam membimbing mala dari awal sampai saat ini, serta bapak apt. Dedi Nofiandi, M.Farm sebagai pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, masukan, nasehat selama proses pendidikan ini. Jasa bapak dan ibu semua tidak akan terlupakan.

Teruntuk Dichlorometana (Diza, Colin dan Melisa) terimakasih solidaritas, kasih sayang, setia, saling melengkapi dan selalu ada dalam perjuangan yang sangat panjang yang telah dilewati bersama-sama. kalian telah memberikan banyak hal yang tak terlupakan.

Teruntuk Ciku, Bibah, Nelsy, Galih, Ria, Cindy, Rita dan lilin terimakasih atas semangat, kasih sayang dan doanya. Meski kita beberapa tahun saling berjauhan, semoga kita tetap saling mendoakan dan segera dipertemukan.

Untuk team the es Aulia, Cani, Colin, Diza, Diah, Eja, Melisa, Mutia, Novia, Iyat, Ii, Indah, Piza dan Tari terimakasih atas kebersamaan, semangat, motivasi, canda dan tawa yang telah kalian berikan selama ini. Walaupun kita dipertemukan di akhir semoga sampai selamanya.

Team piladang (aul dan utu) dan team leukosit (ii dan suai) terimakasih sudah berjuang bersama-sama selama ini.

Teman-teman verenigen terimakasih untuk semua kenangan dan perjuangan yang telah terlewati, semoga pertemanan ini dapat selalu kita bawa dimana saja kita berada. Dan terimakasih untuk semua pihak yang membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini.

by : *Siti Nirmala*

## KATA PENGANTAR



Alhamdulillah Segala puji bagi Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan karuniaNya berupa ilmu, kesehatan, kesempatan dan kemudahan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“Aktivitas Imunomodulasi Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides*(L.) Codd) Pada Mencit Putih Jantan Dengan Metode *Carbon Clearance*”**. Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada Rasulullah SAW yang mengantarkan manusia dari zaman kegelapan ke zaman yang terang benderang ini. Penulisan skripsi penelitian ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi di Universitas Perintis Indonesia.

Terselesainya skripsi ini, penulis menyadari bahwa dalam perencanaan, pelaksanaan dan sampai pada tahap penyelesaiannya melibatkan banyak pihak dan telah mendapatkan bantuan yang sangat berharga baik secara moril maupun materil. Untuk itu pada kesempatan kali ini dengan segala kerendahan hati, penuh rasa hormat dan terima kasih yang tulus penulis sampaikan kepada:

1. Ibu apt. Mimi Aria, M.Farm selaku pembimbing I dan Ibu apt. Sanubari Rela Tobat, M.Farm selaku pembimbing II yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan, ilmu, nasehat dan pengarahan dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi ini.

2. Bapak apt. Dedi Nofiandi, M.Farm selaku pembimbing akademik, yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam kegiatan akademis penulis di Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
3. Bapak Prof. Dr. apt. Elfi Sahlan Ben selaku Rektor Universitas Perintis Indonesia.
4. Ibu Dr. apt. Eka Fitrianda, M.Farm Selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
5. Ibu apt. Revi Yenti, M.Si Selaku Ka. Prodi S1 Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
6. Bapak/Ibu Dosen yang telah mendidik dan mencurahkan ilmu selama ini kepada penulis di Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia .
7. Staf Karyawan/karyawati serta analis labor Fakultas Farmasi dan Fakultas Kesehatan Universitas Perintis Indonesia.

Semoga Allah SWT membalas dan melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua. Penulis berharap semoga skripsi ini menjadi sumbangan yang bernilai ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi kita semua. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan penyempurnaan skripsi ini. Akhirnya, hanya kepada Allah SWT penulis serahkan segalanya mudah-mudahan dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi kita semua.

Padang, 17 September 2020

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang aktivitas imunomodulasi ekstrak etanol daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) pada mencit putih jantan dengan metode *Carbon Clearance*. Pengujian dilakukan pada 20 ekor mencit putih jantan yang dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok dosis 200 mg/kgBB, kelompok dosis 400 mg/kgBB dan kelompok dosis 600 mg/kgBB. Ekstrak etanol daun piladang diberikan selama enam hari secara peroral dan pada hari ke tujuh ditentukan indeks fagositosis, jumlah total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, dan bobot limpa relatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa indeks fagositosis kelompok kontrol adalah 1,00, kelompok dosis 200 mg/kgBB adalah 1,11, kelompok dosis 400 mg/kgBB adalah 1,64 dan kelompok dosis 600 mg/kgBB adalah 1,85, dari indeks fagositosis menyatakan bahwa ekstrak etanol daun piladang bersifat imunostimulan karena indeks fagositosis besar dari satu ( $IF > 1$ ). Berdasarkan uji ANOVA dua arah dilanjutkan dengan uji Duncan terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap indeks fagositosis dan berdasarkan uji ANOVA satu arah dilanjutkan dengan uji Duncan terdapat perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap jumlah total sel leukosit dan jumlah jenis sel leukosit sedangkan bobot limpa relatif tidak berbeda secara signifikan ( $p > 0,05$ ). Berdasarkan parameter uji yang telah dilakukan dapat disimpulkan ekstrak etanol daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) pada dosis 200 mg/kgBB, dosis 400 mg/kgBB dan dosis 600 mg/kgBB memiliki aktivitas imunostimulan terhadap mencit putih jantan.

Kata Kunci : (*Solenostemon scutellarioides*(L.) Codd), Imunomodulasi, *Carbon Clearance*.

## ABSTRACT

Research on the immunomodulating activity of the ethanol extract of piladang leaves (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) in white male mice using the *Carbon Clearance* method has been carried out. Tests was carried out on 20 white male mice which was divided into four groups, namely the control group, the 200 mg / kgBW dose group, the 400 mg / kgBW dose group and the 600 mg / kgBW dose group. The ethanol extract of piladang leaves was given orally for six days and on the seventh day the phagocytosis index, total number of leukocyte cells, number of types of leukocyte cells, and relative spleen weight were determined. The results showed that the phagocytosis index of the control group was 1.00, the 200 mg / kgBW group dose was 1.11, the 400 mg / kgBW group dose was 1.64 and the 600 mg / kgBW group dose was 1.85, the phagocytosis index stated that the ethanol extract of piladang leaves is immunostimulating because the phagocytosis index is greater than one ( $IF > 1$ ). Based on the two-way ANOVA test followed by the Duncan test there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) on the phagocytosis index and based on the one-way ANOVA test followed by the Duncan test there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) on the total number of leukocyte cells and the number of type of leukocyte cells while the weight of the spleen was not significantly different ( $p > 0.05$ ). Based on the test parameters that have been carried out, it can be concluded that the ethanol extract of piladang leaves (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) at a dose of 200 mg / kgBW, a dose of 400 mg / kgBW and a dose of 600 mg / kgBW has immunostimulating activity against white male mice.

Keywords : (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd), Immunomodulation, *Carbon Clearance*.

## DAFTAR ISI

<b>JUDUL</b> .....	i
<b>PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA</b> ..	ii
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>KATA PERSEMBAHAN</b> .....	iv
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>ABSTRAK</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiv
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 Tinjauan Biologi Piladang.....	5
2.1.1 Klasifikasi Piladang .....	5
2.1.2 Nama Daerah Piladang.....	5
2.1.3 Tempat Tumbuh Piladang .....	6
2.1.4 Morfologi Tumbuhan .....	6
2.1.5 Manfaat Tumbuhan .....	6
2.1.6 Tinjauan Kimia.....	7
2.1.7 Farmakologi Daun Piladang.....	10
2.1.8 Tinjauan Farmasetik.....	11
2.2 Tinjauan Immunologi.....	11
2.2.1 Pengertian Sistem Imun .....	11
2.2.2 Jenis-jenis Sistem Imun.....	12
2.2.3 Sel-sel Sistem Imun.....	14
2.2.4 Fagositosis .....	20
2.2.5 Immunomodulasi.....	22
<b>BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN</b> .....	24
3.1 Waktu dan Tempat .....	24
3.2 Alat dan Bahan .....	25
3.2.1 Alat .....	25
3.2.2 Bahan.....	25
3.3 Metode Penelitian.....	25
3.3.1 Pengambilan Sampel .....	25
3.3.2 Identifikasi Sampel.....	26
3.3.3 Ekstraksi .....	26
3.4 Karakterisasi Ekstrak .....	26
3.4.1 Pemeriksaan Organoleptis.....	26
3.4.2 Pemeriksaan Kelarutan.....	26
3.4.3 Penentuan Rendemen Ekstrak.....	27

3.4.4 Penentuan Susut Pengerinan .....	27
3.4.5 Penetapan Kadar Abu .....	28
3.4.6 Pemeriksaan PH Ekstrak .....	28
3.4.7 Skrining Fitokimia.....	28
3.5 Uji Aktivitas Imunomodulasi.....	30
3.5.1 Penyiapan Hewan Percobaan .....	30
3.5.2 Dosis.....	30
3.5.3 Persiapan Sediaan Uji.....	30
3.5.4 Penyiapan Aktivitas Ekstrak Daun Piladang.....	33
3.6 Analisa Data .....	35
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>37</b>
4.1 Hasil .....	37
4.2 Pembahasan.....	39
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>54</b>
5.1 Kesimpulan .....	54
5.2 Saran .....	54
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>55</b>
<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Waktu pelaksanaan penelitian.....	24
2. Hasil perhitungan rendemen ekstrak etanol daun piladang .....	70
3. Hasil pemeriksaan ekstrak etanol daun piladang .....	71
4. Hasil pemeriksaan susut pengeringan ekstrak etanol daun piladang .....	72
5. Hasil pemeriksaan kadar abu ekstrak etanol daun piladang .....	73
6. Hasil pemeriksaan kadar karbon tinta cina .....	74
7. Nilai absorban karbon dalam darah mencit putih jantan dengan panjang gelombang 638 nm.....	75
8. Nilai absorban dari darah mencit putih jantan yang mengandung karbon setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang.....	77
9. Harga konstanta fagositosis dari darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama 6 hari .....	79
10. Nilai indeks fagositosis dari darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama enam hari.....	81
11. Uji ANOVA dua arah dan uji lanjutan Duncan indeks fagositosis dari darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang selama 6 hari.....	82
12. Jumlah total sel leukosit pada darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama 6 hari dengan haemocytometer .....	83
13. Deskriptif, ANOVA satu arah dan uji lanjutan duncan total leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama 6 hari .....	83
14. Jumlah jenis sel leukosit pada darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang selama 6 hari.....	85
15. Deskriptif, ANOVA satu arah dan uji lanjutan duncan eosinofil pada darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama 6 hari .....	86
16. Deskriptif, ANOVA satu arah dan uji lanjutan duncan neutrofil batang pada darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama 6 hari .....	88
17. Deskriptif, ANOVA satu arah dan uji lanjutan duncan neutrofil segmen pada darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama 6 hari .....	90
18. Deskriptif, ANOVA satu arah dan uji lanjutan duncan limfosit pada darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun	

piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama 6 hari .....	91
19. Deskriptif dan ANOVA satu arah dan uji lanjutan duncan monosit pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) setelah pemberian ekstrak selama 6 hari .....	93
20. Bobot limpa relatif mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama 6 hari .....	95
21. Deskriptif dan ANOVA satu arah bobot limpa relative pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama 6 hari .....	96

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Struktur flavonoid.....	7
2. Diagram perbandingan indeks fagositosis pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama 6 hari.....	45
3. Diagram jumlah total sel leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama 6 hari .....	48
4. Diagram jumlah jenis sel leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama 6 hari .....	49
5. Diagram bobot limpa relatif pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama 6 hari .....	52
6. Hasil identifikasi daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) di Herbarium ANDA Universitas Andalas .....	59
7. Keterangan lolos kaji etik di Komite Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas ANDALAS .....	60
8. Daun Piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) .....	61
9. Preparat hapusan darah .....	61
10. Mikroskop .....	61
11. Bentuk jenis sel leukosit .....	62
12. haemacytometer .....	63
13. Spektrofotometer Uv-vis.....	63
14. Bentuk limpa hewan percobaan .....	64
15. Skema kerja pembuatan ekstrak etanol daun piladang .....	65
16. Skema kerja uji fagositosis dengan metode <i>carbon clearance</i> .....	67
17. Skema kerja penentuan jumlah total sel leukosit dengan metode haemacytometer setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang dengan metode <i>carbon clearance</i> .....	68
18. Skema kerja penentuan jumlah jenis sel leukosit dengan metode hapusan darah setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang selama 6 hari .....	69
19. Pengukuran panjang gelombang maksimum karbon .....	75
20. Grafik kurva kalibrasi karbon dalam darah mencit putih jantan pada panjang gelombang 638 nm .....	76
20. Diagram absorban suspensi karbon terhadap waktu pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama enam hari .....	78
21. Diagram konstanta fagositosis dari darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) selama 6 hari .....	80

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
20. Identifikasi daun piladang .....	59
21. <i>Ethical Clearance</i> .....	60
22. Dokumentasi penelitian .....	61
23. Skema Kerja.....	65
24. Hasil pemeriksaan karakteristik ekstrak etanol daun piladang .....	70
25. Hasil uji aktivitas imunomodulasi dengan metode <i>carbon clearance</i> .....	74
26. Hasil perhitungan jumlah total sel leukosit.....	83
27. Hasil perhitungan jumlah jenis sel leukosit .....	85
28. Hasil perhitungan bobot limpa relatif .....	95

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Lingkungan sekitar kita mengandung berbagai jenis patogen seperti bakteri, virus, protozoa, parasit dan iritan. Bahan-bahan tersebut dapat masuk ke dalam tubuh dan menimbulkan berbagai penyakit bahkan kerusakan jaringan. Jenis patogen tersebut merupakan bahan yang tidak diinginkan dan perlu disingkirkan (Baratawidjaja, 2018).

Tubuh selalu mempertahankan diri ketika ada benda asing yang mencoba untuk masuk ke dalamnya, hal ini disebut dengan imunitas. Beberapa jaringan dan sel tubuh bersatu menjadi suatu sistem imun yang kemudian mereka memberikan reaksi yang disebut respon imun. Biasanya, respon imun selalu dirangsang dengan menggunakan vaksinasi. Sistem imun memiliki banyak fungsi, yaitu untuk pertahanan tubuh dari benda asing, membersihkan sel mati, memperbaiki jaringan rusak, dan juga mencegah aktifnya sel kanker dan tumor didalam tubuh (Abbas dkk, 2016).

Imunomodulator adalah zat ataupun obat yang tepat untuk mengembalikan ketidak-seimbangan sistem kekebalan yang terganggu dengan cara merangsang dan memperbaiki fungsi sistem kekebalan (Baratawidjaja dan Iris, 2018). Beberapa tanaman yang telah diteliti memiliki aktivitas sebagai imunomodulator antara lain umbi bawang merah (*Allium cepa* L.) (Alfitasari dkk, 2017), tapak liman (Yanti, 2018), kemangi (*Ocimum basilicum* L.) (Aldi, 2016), daging buah sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) (Suryani, 2017).

Di masyarakat tumbuhan piladang digunakan dengan cara meminum air rebusan atau remasan dan dipanggang dengan bara api yang digunakan sebagai obat sakit pinggang karena haid, obat batuk, meredakan nyeri haid, membantu menghentikan perdarahan setelah melahirkan, penambah nafsu makan, obat bibir pecah-pecah, obat ambeien dan meningkatkan kesuburan dan menempel daun tersebut ke bisul (Wakhidah *dkk*, 2018). Dari beberapa penelitian sebelumnya diketahui bahwa daun piladang memiliki aktivitas seperti antiinflamasi (Aria *dkk*, 2015), antioksidan (Verawati *dkk*, 2016), antibakteri (Muljono *dkk*, 2016) dan imunomodulator (Pakadang *dkk*, 2015). Penelitian terkait daun piladang sebagai imunomodulator sebelumnya sudah dilakukan dan berdasarkan pengukuran parameter-parameter maka didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol daun piladang bekerja pada T-proliferasi limfosit sebagai imunomodulator untuk meningkatkan kekebalan tubuh (imunostimulan) (Pakadang *dkk*, 2015).

Komponen metabolit sekunder tumbuhan piladang (*Solenostemon Scutellarioides* (L.) Codd.) yaitu quersetin (Sukmawati *dkk*, 2019), steroid, flavonoid, tanin dan saponin (Ridwan *dkk*, 2005). Flavonoid diketahui memiliki aktivitas imunostimulan (Eriani, 2018). Salah satu kandungan flavonoid yang bekerja sebagai antiinflamasi yaitu quersetin (Morikawa *dkk*, 2003).

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang aktivitas imunomodulator ekstrak etanol daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) dengan menggunakan metode *Carbon Clearance*, menghitung jumlah sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit dan bobot limpa relatif pada mencit putih jantan. Adapun penelitian ini bermaksud membuktikan secara

ilmiah khasiat dari ekstrak daun piladang sebagai imunomodulator yang belum ada dilaporkan oleh peneliti sebelumnya dengan menggunakan metode tersebut.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah ekstrak etanol daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) memiliki aktivitas sebagai imunomodulator pada mencit putih jantan dengan metode *Carbon Clearance* yang diketahui dengan menghitung nilai indeks fagositosis serta pengaruh terhadap jumlah total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit dan bobot limpa relatif pada mencit putih jantan ?
2. Apakah variasi dosis ekstrak etanol daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) mempengaruhi aktivitas imunomodulasi pada mencit putih jantan ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk menentukan aktivitas ekstrak etanol daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) sebagai imunomodulator dengan metode *Carbon Clearance* yang diketahui dengan menghitung nilai indeks fagositosis serta pengaruh terhadap jumlah total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit dan bobot limpa relatif pada mencit putih jantan.
2. Untuk melihat pengaruh pemberian variasi dosis ekstrak etanol daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) mempengaruhi aktivitas imunomodulasi pada mencit putih jantan.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai aktivitas imunomodulasi dari ekstrak etanol daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd).

2. Sebagai tambahan informasi yang lebih lanjut mengenai aktivitas imunomodulasi pada pemberian ekstrak etanol daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) pada mencit putih jantan.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Biologi Tumbuhan Piladang (*Solenostemon Scutellarioides* (L.) Codd)

#### 2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Klasifikasi tanaman piladang menurut Dalimartha (2008) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Solanales
Family	: Lamiaceae
Genus	: <i>Plectranthus</i> / <i>Coleus</i> / <i>Solenostemon</i>
Species	: <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd
Sinonim	: <i>Coleus scutellarioides</i> (L.) Benth., <i>Coleus atropurpureus</i> (L.) Benth., <i>Plectranthus scutellarioides</i> (L.) Benth.

#### 2.1.2 Nama Daerah

Nama umum tumbuhan ini adalah miana atau mayana atau iler (Indonesia). Di masyarakat indonesia tumbuhan ini dikenal juga dengan nama daerah yaitu adang-adang (Palembang), jawer kotok (Sunda), Iler dan kentangan (Jawa), ati-ati (Bugis) dan serewung (Minahasa) (Hariana dan Rodame, 2015). miana dan piladang (Sumbar), si gresing (Batak) (Dalimartha, 2008).

### **2.1.3 Tempat Tumbuh**

Tumbuhan piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) tumbuh subur didaerah dataran yang rendah sampai pegunungan dengan tinggi 1400 M diatas permukaan laut. Umumnya tumbuhan ini ditemukan di tempat lembab dan terbuka seperti tumbuh liar di tanah-tanah tak terawat, tepi ladang, tepi saluran irigasi, halaman rumah atau didalam pot bunga. Tumbuhan ini sangat cocok terpapar sinar matahari, akan semakin cemerlang warna daunnya (Suhono, 2010).

### **2.1.4 Morfologi Tumbuhan**

Herba tegak dan merayap dengan tinggi 30-150 cm, mempunyai penampang batang berbentuk segi empat dan termasuk kategori tumbuhan basa yang batangnya mudah patah. Daun berbentuk hati dan pada setiap tepiannya dihiasi oleh jorong-jorong atau lekuk-lekuk tipis yang bersambungan, didukung oleh tangkai daun, dan memiliki warna yang beraneka ragam. Bunga berbentuk untaian bersusun, muncul pada pucuk tangkai batang (Hidayat dan Rodame, 2015).

### **2.1.5 Manfaat Tumbuhan**

Tumbuhan piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) adalah salah satu flora kekayaan indonesia yang mempunyai banyak manfaat. Selain berbagai tanaman hias, piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) juga telah digunakan sebagai obat tradisional. Adapun manfaat tumbuhan piladang ini yaitu menyembuhkan ambeien, diabetes melitus, demam, diare, bisul dan keputihan (Hidayat dan Rodame, 2015), daun tumbuhan piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) ini berkhasiat untuk penetralisi racun (antitoksik), menghambat pertumbuhan bakteri (antiseptik), mempercepat pematangan bisul,

gangguan pencernaan makanan (dispepsi), randang padu, gigitan ular berbisa dan serangga (Dalimartha, 2008). Tumbuhan piladang dapat juga menyembuhkan radang telinga, antelmintik, tetapi dengan catatan ibu hamil dilarang meminum rebusan daun piladang ini karena dapat menyebabkan keguguran (Yuniarti, 2008).

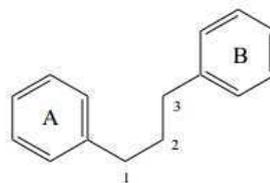
### 2.1.6 Tinjauan Kimia Tumbuhan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya tumbuhan piladang mengandung komponen metabolit sekunder yaitu quersetin (Sukmawati *dkk*, 2019), steroid, flavonoid, tanin dan saponin (Ridwan *dkk*, 2006), minyak atsiri, karvakrol, eugenol, etil salisilat dan lendir (Hidayat dan Rodame, 2015).

Flavonoid bersifat sebagai imunostimulan (Eriani, 2018), antioksidan (Verawati *dkk*, 2016), kardioprotektif, antidiabetes dan antikanker (Marzouk, 2016). Saponin memiliki aktivitas menurunkan kadar kolesterol darah (Vinavora *dkk*, 2015). Quersetin sebagai antiinflamasi (Morikawa *dkk*, 2003). Steroid sebagai antiinflamasi (Mutschler, 1991).

## 1. Flavonoid

### a. Monografi



**Gambar 1. Struktur Umum Flavonoid (Harborne, 1987)**

Flavonoid merupakan senyawa polar dengan adanya beberapa gugus hidroksil bebas, sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol, dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid menyebabkan flavonoid lebih

mudah larut dalam air, sedangkan aglikon yang kurang polar seperti flavon yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar seperti eter dan kloroform (Harborne, 1987).

b. Identifikasi

Dapat diidentifikasi dengan besi (III) klorida yang menunjukkan adanya gugus fenolik pada flavonoid. Pereaksi asam klorida pekat dan logam dapat membentuk kompleks dengan 4-keto-hidroksi pada flavonoid. Flavonoid bereaksi dengan basa (natrium hidroksida, ammonia) yang akan membentuk garam (Harborne, 1987).

c. Isolasi

Isolasi dapat dilakukan dengan cara menimbang, mencuci, dan mengeringkan daun piladang terlebih dahulu, kemudian diekstraksi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi dan sokletasi menggunakan pelarut yang sesuai dengan kepolaran flavonoid, kemudian pelarut dipekatkan sampai volume yang dibutuhkan dan dibebaskan dari senyawa-senyawa non polar menggunakan N-heksan dan kloroform, lalu difraksi dengan pelarut yang cocok dan selanjutnya dilakukan pada tahap kromatografi (Harborne, 1987).

d. Penetapan kadar

Ambil ekstrak sebanyak 1,5 mL metanol, tambah 0,1 mL aluminium klorida 10%, tambah 0,1 mL pottasium asetat 1 M dan tambahkan air suling 2,8 mL, biarkan 10 menit dan ukur panjang gelombang maksimal dengan spektrofotometer UV-visible (Pourmorad *dkk*, 2006).

## 2. Steroid

Steroid adalah senyawa triterpenoida yang kerangka dasarnya sistem cincin siklopentanohidropentantren. Senyawa ini tersebar luas di alam dan mempunyai fungsi biologis yang sangat penting misalnya untuk antiinflamasi (Harborne, 1987).

Beberapa jenis senyawa steroid yang digunakan dalam dunia obat-obatan antara lain estrogen merupakan jenis steroid hormon seks yang digunakan untuk kontrasepsi sebagai penghambat ovulasi, progestin merupakan steroid sintetik digunakan untuk mencegah keguguran dan uji kehamilan. Glukokortikoid sebagai antiinflamasi, alergi, demam, leukimia, dan hipertensi serta kardenolida merupakan steroid glikosida jantung sebagai obat diuretik dan penguat jantung (Doerge, 1982).

### a. Identifikasi

Sampel sebanyak  $\pm 1$  mL dicampur dengan 3 mL kloroform atau 3 mL etanol 70% dan ditambah 2 mL asam asetat anhidrat (reagen Libermann-Burchard). Perubahan warna dari ungu ke biru atau hijau menunjukkan adanya steroid (Harborne, 1987).

### b. Isolasi

Isolasi dapat dilakukan dengan cara menimbang, mencuci, dan mengeringkan daun piladang terlebih dahulu, kemudian diekstraksi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi dan sokletasi menggunakan pelarut yang sesuai dengan kepolaran flavonoid, kemudian pelarut dipekatkan sampai volume yang dibutuhkan dan dibebaskan dari senyawa-senyawa non polarmenggunakan N-heksan dan kloroform, lalu

difraksi dengan pelarut yang cocok dan selanjutnya dilakukan pada tahap kromatografi (Harborne, 1987).

c. Penetapan kadar

Ambil ekstrak 0,2 mL diencerkan dengan aqua dest sampai 10 mL kemudian lakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-visible pada panjang gelombang 365 nm (Stahl, 1985).

### 2.1.7 Tinjauan Farmakologi

Daun piladang memiliki sifat imunomodulator dengan cara meningkatkan jumlah proliferasi sel T (T-limposit) dan sel T CD4 (*Cluster of Differentiation*), IFN- $\gamma$  (Interferon-  $\gamma$ ) dan TNF- $\alpha$  (*Tumor Necrosis Faktor alpha*) (Pakadang *et al*, 2015). Salah satu contoh dari penggunaan daun piladang sebagai imunomodulator yaitu di Desa Tuada dan Todoke, masyarakat desa tersebut menggunakan daun piladang sebagai obat batuk (Wakhidah dan Marina, 2018).

Adapun cara penggunaan daun piladang ini didalam masyarakat menurut (Hidayat dan Rodame, 2015) adalah sebagai berikut :

1. Cuci 17 helai daun piladang, rebus dengan 2 gelas air sampai airnya tinggal setengah, minum sekali sehari untuk mengurangi sakit ambeien.
2. Rebus 5 helai daun piladang dengan segelas air sampai tinggal setengah, saring dan beri sesendok minyak kacang, minum sekaligus untuk mengatasi sembelit.
3. Cuci daun piladang olesi dengan minyak kelapa lalu digarang, pada kondisi hangat-hangat, tepelkan pada bisul.
4. Cuci beberapa helai daun piladang, remas-remas sampai keluar cairannya, kemudian tempelkan pada luka atau borok.

5. Rebus 2/3 genggam daun piladang dengan 3 gelas air hingga hanya tersisa 3/4 gelas, saring air rebusan lalu minum bersama madu tiga kali sehari untuk mengatasi keputihan.

### **2.1.8 Tinjauan Farmasetik**

Dari hasil penelitian tumbuhan piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) telah terbukti kaya akan kandungan flavonoid. Salah satu bentuk sediaan dari daun piladang adalah salep untuk pengobatan luka yang terinfeksi bakteri (Marpaung *dkk*, 2014), sediaan dalam bentuk tablet (Andani, 2017) dan jamu yang dikemas dalam kapsul yang didalamnya mengandung ekstrak *Solenostemon scutellarioides*, obat ini berkhasiat membantu meredakan wasir, mengatasi keputihan dan terlambat haid.

## **2.2 Tinjauan Immunologi**

### **2.2.1 Pengertian Sistem Imun**

Sistem imun adalah suatu sistem pertahanan tubuh yang kompleks yang memberikan perlindungan terhadap adanya invasi zat-zat asing ke dalam tubuh. Berbagai senyawa organik dan an-organik, baik yang hidup maupun mati yang berasal dari hewan, tumbuhan, jamur, bakteri, virus, parasit, debu, polusi, uap, asap dan bahan iritan lainnya yang terdapat dalam lingkungan sekitar yang masuk kedalam tubuh dapat menimbulkan penyakit dan kerusakan jaringan. Selain itu sel-sel tubuh yang mati atau sel yang bermutasi yang tumbuh tidak terkendali merupakan bahan yang tidak diinginkan dan harus dikeluarkan atau dimusnahkan. Bagian-bagian yang dianggap bukan bagian dari tubuh akan dimusnahkan oleh sistem imunitas tubuh (Radji, 2015).

### 2.2.2 Jenis-jenis Sistem Imun

Jenis-jenis sistem imun ada 2, yaitu sistem imun non spesifik dan sistem imun spesifik (Baratawidjaja dan Iris, 2018) :

#### A. Sistem imun nonspesifik ( Alami )

Sistem imun non spesifik adalah respon imun lini pertama sebelum respon imun spesifik berkembang. Sistem imun non spesifik ini berperan untuk menemukan mikroba dan sel yang rusak dalam jaringan. Sistem imun non spesifik sangat diperlukan untuk respon imun spesifik selanjutnya.

Adapun respon imun nonspesifik memiliki 4 jenis pertahanan :

##### a. Pertahanan fisik/mekanik

Kulit sebagai organ tubuh terbesar berfungsi untuk memberikan perlindungan fisik dan kimia terhadap dunia luar. Kulit membentuk lapisan pelindung yang mencakup seluruh permukaan tubuh menjaga semua organ dan jaringan dibawahnya. Dalam sistem pertahanan fisik atau mekanik, kulit, selaput lendir, silia saluran napas, batuk dan bersin, merupakan garis pertahanan terdepan terhadap infeksi.

##### b. Pertahanan biokimiawi

Ada beberapa mikroba yang dapat memasuki tubuh melalui kelenjar sebaceous dan folikel rambut. pH asam keringat dan sekresi sebaceous, berbagai asam lemak yang dilepas kulit mempunyai efek denaturasi terhadap protein membran sel sehingga dapat mencegah infeksi yang dapat terjadi melalui kulit. Lisozim dalam keringat, ludah, air mata dan air susu ibu, melindungi tubuh terhadap berbagai kuman gram-positif oleh karena dapat menghancurkan lapisan peptidoglikan dinding bakteri.

c. Pertahanan humoral

Imunitas humoral yang terdapat dalam cairan tubuh ekstraselular diperankan makromolekul (sebaliknya dari selular) yang ditemukan dalam cairan ekstraselular seperti antibodi, komplemen dan beberapa peptida antimikrobia. Imunitas humoral juga mencakup produksi antibodi dan proses-proses tambahan seperti aktivasi sel Th<sub>2</sub> (T helper 2) dan produksi sitokin, *germinalcenter*, dan *isotype switching*, maturitas afinitas dan pembentukan sel memori, fungsi antibodi dan efektor seperti netralisasi patogen dan toksin, aktivasi komplemen, promosi opsonisasi-fagositosis dan eliminasi patogen.

d. Pertahanan selular

Fagosit, sel NK (*Natural Killer*), sel mast dan eosinofil berperan dalam sistem imun nonspesifik selular. Sel-sel imun tersebut dapat ditemukan dalam sirkulasi atau jaringan.

**B. Sistem imun spesifik (adaptif)**

Sistem imun spesifik adalah suatu sistem yang dapat mengenali suatu substansi asing yang masuk ke dalam tubuh dan dapat memacu perkembangan respon imun yang spesifik terhadap substansi tersebut. Sistem imun spesifik disebut juga dengan sistem imun yang didapat (*adaptive immunity*).

a. Sistem imun spesifik humoral

Pemeran utama dalam sistem imun spesifik humoral adalah limfosit B atau sel B. Sel B berasal dari sel asal multipoten disussum tulang. Sel B yang dirangsang oleh benda asing akan berproliferasi, berdiferensiasi dan

berkembang menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi. Antibodi yang dilepas dapat ditemukan dalam serum.

b. Sistem imun spesifik selular

Limfosit T atau sel T berperan penting pada sistem imun spesifik selular. Sel tersebut juga berasal dari sel asal yang sama seperti sel B. Pada orang dewasa, sel T dibentuk didalam sumsum tulang, tetapi proliferasi dan diferensiasinya terjadi di dalam kelenjar timus atas pengaruh berbagai faktor asal timus.

### **2.2.3 Sel-sel sistem imun**

#### **A. Sel-sel sistem imun non spesifik**

Komponen seluler sistem imun nonspesifik diantaranya adalah (Baratawidjaja dan Iris, 2018):

a) Sawar Epitel

Sel epitel merupakan penghubung penting antara lingkungan luar dan dalam dari tubuh misalnya pada saluran cerna dan saluran napas. Sel epitel menutupi permukaan tubuh seperti kulit, saluran napas dan cerna, paru, hati, pankreas, ginjal dan lainnya. Sel epitel dapat menjadi tempat masuk mikroorganisme dan berbagai bahan berbahaya. Peranan epitel yang sangat penting adalah mempertahankan sawar terhadap lingkungan dan melindungi sistem imun yang rentan terhadap mikroorganisme dari luar tubuh.

b) Sistem fagosit

1) Sistem fagosit mononuklear (MN)

Sistem fagosit mononuklear ini mencakup promonosit dan prekursornya dalam sumsum tulang, monosit dalam darah tepi dan makrofag dalam jaringan

(jaringan ikat, limpa, hati, paru, sumsum tulang dan kelenjar limfoid) beberapa sel tersebut bergerak-fagositik-menghancurkan bahan asing yang tidak diinginkan.

Meskipun berbagai sel dalam tubuh dapat melakukan fagositosis, tetapi sel utama yang berperan dalam pertahanan nonspesifik adalah sel mononuklear (monosit dan makrofag) serta sel polinuklear (granulosit). Sel-sel ini berperan sebagai sel yang mengenal dan menangkap antigen, mengolah dan selanjutnya memprestasikannya ke sel T. Monosit dan makrofag berasal dari sel asal hematopoetik yang sama. Granulosit hidup pendek, mengandung granula yang berisikan enzim hidrolitik. Beberapa granula berisikan pula laktoferin yang bersifat bakterisidal. Sistem fagosit mononuklear terdiri atas monosit dalam sirkulasi dan makrofag dalam jaringan.

#### 1. Monosit

Monosit adalah fagosit yang didistribusikan secara luas sekali di organ limfoid dan organ lainnya. Peranan dari monosit ini adalah sebagai APC (*Antigen Presenting Cell*), mengenal, menyerang mikroba dan sel kanker dan juga memproduksi sitokin, mengerahkan pertahanan sebagai respon terhadap infeksi. Beberapa monosit dapat menemukan antigen dan membawanya ke KGB (Kelenjar Getah Bening) regional tanpa berdiferensiasi menjadi makrofag. Monosit dapat memproduksi IL-1 (Interleukin-1), IL-6 (Interleukin-6) dan TNF- $\alpha$  (*Tumor Necrosis Factor alpha*). Monosit juga berperan dalam remodeling dan perbaikan jaringan. Sel-sel imun nonspesifik ada dalam darah selama 10 jam sampai 2 hari sebelum meninggalkan sirkulasi darah. Monosit kemudian bermigrasi ke tempat tujuan di berbagai jaringan untuk berdiferensiasi sebagai makrofag. Proses ini

lebih menonjol pada respons terhadap infeksi atau kanker. Makrofag dan neutrofil saling bekerja sama.

## 2. Makrofag

Makrofag adalah monosit yang berdiferensiasi ke jaringan. Penamaan makrofag sesuai dengan lokasi jaringan. Makrofag dapat hidup lama, mempunyai beberapa granula dan melepaskan berbagai bahan, antara lain lisozim, komplemen, interferon dan sitokin yang semuanya memberikan kontribusi dalam pertahanan nonspesifik dan spesifik. Makrofag diaktifkan oleh berbagai rangsangan, dapat menangkap, memakan dan mencerna antigen eksogen, seluruh mikroorganisme, partikel tidak larut dan bahan endogen seperti sel penjamu yang cedera atau mati. Aktivasi makrofag selanjutnya dapat dipacu oleh sitokin yang dilepaskan sel Th (*T helper*) dan oleh mediator respons inflamasi.

### 2) Sistem fagosit polinuklear (PMN)

Fagosit polimorfonuklear atau granulosit terdiri dari neutrofil, eosinofil dan basofil disebut sebagai PMN karena bentuk dari nukleusnya.

#### a. Neutrofil

Neutrofil merupakan jenis fagosit terbanyak yang biasanya mencapai 50-60% dari seluruh leukosit dalam sirkulasi darah. Neutrofil merupakan sebagian besar dari leukosit dalam sirkulasi dan hanya dapat bertahan dalam sirkulasi kurang dari 7-10 jam sebelum bermigrasi ke jaringan, dan hidup selama beberapa hari dalam jaringan. Neutrofil mempunyai reseptor untuk IgG (Imunoglobulin G) ( $Fc\gamma$ -R) dan komplemen. Neutrofil yang bermigrasi pertama dari sirkulasi ke jaringan terinfeksi dengan cepat dilengkapi dengan berbagai reseptor seperti TLR 2 (Toll Like Receptor 2). Neutrofil dapat

mengenal patogen secara langsung. Ikatan dengan patogen dan fagositosis dapat meningkat bila antibodi atau komplemen yang berfungsi sebagai opsonin diikatnya.

b. Eosinofil

Eosinofil merupakan 2-5% dari sel darah putih orang sehat tanpa alergi. Eosinofil juga dapat berfungsi sebagai fagosit. Eosinofil dapat pula dirangsang untuk degranulasi seperti halnya sel mast dan basofil serta melepas mediator. Fungsi utamanya adalah melawan infeksi parasit dan dapat juga memakan kompleks antigen antibodi dan juga berperan pada imunitas parasit dan memiliki reseptor antara lain untuk IgE. Eosinofil sebagai sel multifungsional dengan memiliki aktivitas antibakteri dan antivirus. Eosinofil ada di sirkulasi namun umumnya menetap di lamina propria saluran cerna.

c. Basofil

Sel basofil merupakan sel dengan sejumlah granula khas yang basofilik yang mengandung heparin, histamin dan leukotrin. Morfologis menyerupai sel mast meskipun berasal dari sel induk yang berlainan dalam sumsum tulang.

c) Sel dendrit (SD) – APC

Sel dendritik adalah fagosit dalam jaringan dan terus menerus berkontak dengan lingkungan luar terutama kulit dan mukosa hidung, paru, lambung dan usus. SD ditemukan dalam darah dalam jumlah <0,1% dalam darah. Disebut dendritik oleh karena dalam perkembangannya membentuk cabang-cabang yang dikenal dengan istilah dendrit. Sel berperan dalam presentasi

antigen (APC) dan merupakan penghubung antara imunitas nonspesifik dan spesifik. APC mempersentasikan peptida ke sel T CD4<sup>+</sup> (*Cluster of Differentiation*) melalui MHC-II (*Kompleks histokompatibilitas mayor*) atau ke sel T CD8<sup>+</sup> melalui MHC-I, sehingga dapat mengaktifkan sel CD4 dan CD8 secara langsung. Sedikitnya dikenal 4 jenis SD yaitu sel Langerhans, sel interstisial, SD asal monosit dan plasmasitoid.

d) Sel Null

Sel Null adalah limfosit dengan sifat sitotoksik intermediet antara sel B dan sel T, jumlahnya kurang dari 3% dengan ukuran sel yang besar dengan granul besar dan granzim dalam plasma dan hanya hidup 5-6 hari dan berfungsi untuk membunuh sel sasaran tertentu terutama sel penjamu yang terinfeksi virus atau berubah menjadi sel tumor. Sel Null dibagi dalam 2 golongan yaitu sel NK (*Natural Killer*) dan sel K (*Killer*).

e) Basofil dan sel mast

Sel basofil, sel mast dan eosinofil serupa dengan neutrofil, diaktifkan bila dihadapkan dengan patogen. Jumlah sel basofil dalam sirkulasi darah yaitu <0,5% sangat sedikit dari seluruh sel darah putih. Basofil diduga bisa berfungsi sebagai fagosit tapi sel tersebut juga dapat melepas mediator inflamasi. Sel mast adalah struktur, fungsi, dan proliferasinya serupa dengan basofil. Bedanya adalah sel mast hanya ditemukan didalam darah.

f) Eosinofil

Sel eosinofil memiliki nukleolus dengan 2 lobus dan sitoplasma berisikan sekitar 200 granul yang mengandung enzim dan protein dengan berbagai fungsi dan peran dalam berbagai proses inflamasi.

g) Trombosit

Trombosit merupakan sel kecil tanpa nukleus dalam sirkulasi darah dan adhesi trombosit di tempat kerusakan vaskular merupakan hal yang penting sekali dalam homeostatis dan trombosis.

**B. Sel-sel imun spesifik**

Respon imun spesifik merupakan serangkaian proses yang saling berkaitan yang di atur oleh suatu sistem yang kompleks. Apabila antigen masuk ke dalam tubuh maka ada 2 jenis respon utama yaitu respon antibodi/humoral dan respon selular yang masing-masing dibawakan sel B dan sel T.

a. Sel B

Sel B merupakan 5-25% dari limfosit dalam darah yang berjumlah sekitar 1000-2000 sel/mm<sup>3</sup>. Sel B dapat mempresentasikan antigen ke sel T dan melepaskan sitokin namun fungsi utamanya berkembang menjadi sel plasma yang membuat dan mensekresi antibodi. Ikatan dengan antibodi dapat menginaktifkan virus dan toksin mikroba sehingga dapat mencegah mikroba berikatan dengan reseptor penjamu. Ikatan antibodi juga memberikan petanda untuk destruksi virus, toksin yang memudahkan fagosit dari sistem imun. Reseptor sel B disebut dengan reseptor permukaan sel yang bergabung dengan membrane sel. Melalui ikatan dengan molekul ekstraseluler, reseptor berperan sebagai sinyal sel. Reseptor tersebut merupakan protein membran khusus yang memungkinkan komunikasi antara sel dengan dunia luar. Reseptor sel B (BCR) yang mengikat antigen, akan memicu 4 proses yaitu proliferasi, diferensiasi menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi, membentuk sel memori dan mempresentasikan antigen ke sel T.

b. Sel T

Progenitor sel berasal dari sumsum tulang yang bermigrasi ke timus dan berdiferensiasi menjadi sel T. Sel T akan langsung mematikan sel terinfeksi virus yang menunjukkan antigen virus di permukaannya, dan menyingkirkan sel terinfeksi sebelum virus berkesempatan bereplikasi. Di pihak lain, sel T memproduksi molekul sinyal yang mengaktifkan makrofag untuk menghancurkan / fagositosis mikroba yang masuk.

Satu sel limfosit hanya mengekspresikan reseptor untuk satu jenis antigen sehingga sel tersebut hanya dapat mengenal satu jenis antigen saja. Reseptor sel T ditemukan pada semua sel T matang, dapat mengenal peptida antigen yang diikat MHC dan dipresentasikan APC, Respon imunitas seluler ini sangat tergantung pada aktivitas sel-sel limfosit tertentu, terutama sel T. Terdapat 4 tipe sel T yaitu T penolong (Th), sel T sitotoksik (Tc), Sel T hipersensitifitas lambat (Td) dan sel T penekan (Ts).

#### **2.2.4 Fagositosis**

Pada umumnya ketika tubuh terinfeksi oleh mikroorganisme, jumlah sel darah putih yang terdapat didalam sel darah akan meningkat dari biasanya. Hal ini disebabkan oleh karena sel darah putih yang biasanya tinggal didalam kelenjar getah bening masuk kedalam sistem peredaran darah untuk mempertahankan tubuh dari serangan penyakit infeksi tersebut. Sel darah putih ini akan berada dalam darah untuk beberapa saat. Sebagian besar sel darah putih akan keluar dari pembuluh darah dan akan masuk ke dalam jaringan tubuh. Akibatnya sel sistem imun ini akan tersebar luas di seluruh tubuh dan mampu bertahan di berbagai jaringan tubuh.

Fagositosis merupakan mekanisme perlawanan sel kekebalan terhadap invasi mikroorganisme di luar sel. Sel yang berperan adalah makrofag dan leukosit polimorfonuklear (PMN). Proses fagositosis dan penghancuran mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh terdiri dari :

- a. Kemotaksis, yaitu rangsangan kimiawi yang mendorong sel fagosit bergerak ke arah mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh.
- b. Penempelan sel fagosit dengan mikroorganisme atau bahan asing lainnya. Dalam keadaan tertentu penempelan sel fagosit dengan mikroorganisme ini berjalan dengan mudah sehingga mikroorganisme dapat langsung difagosit oleh sel fagosit. Proses ini berlangsung dengan lebih mudah apabila mikroorganisme terlebih dahulu diselubungi oleh protein serum tertentu yang disebut dengan opsonisasi. Protein dapat bertindak sebagai opsonin ini antara lain adalah komponen protein dari sistem komplemen dan molekul antibodi.
- c. *Ingestion*, yaitu suatu proses dimana sel fagosit memanjang membentuk pseudopodia dan mengurung mikroorganisme.
- d. Pembentukan fagosom, dimana sekali mikroorganisme dikurung oleh pseudopodia maka sel fagosit akan menelan mikroorganisme ke dalam fagosom atau vesikel fagosit.
- e. *Digestion*, dimana fagosom akan masuk ke dalam sitoplasma sel dan bergabung dengan lisosom melalui suatu fusi sel membentuk satu sel yang besar yang disebut dengan fagolisosom yang mampu memusnahkan mikroorganisme yang terperangkap didalamnya.

- f. Setelah enzim-enzim bekerja membunuh mikroorganisme dalam fagolisosom maka didalam fagolisosom akan terdapat zat-zat yang tidak dapat diuraikan oleh enzim yang disebut dengan residu.
- g. Proses selanjutnya adalah mengeluarkan residu tersebut dari dalam fagosit.

Apabila mikroorganisme berada di dalam sel (intraseluler) misalnya bakteri tuberkulosis, monosit dalam darah dan makrofag tidak mendapat rangsangan secara kemotaksis, maka kemampuan sitolitiknya rendah, sehingga diperlukan mekanisme lain untuk memusnahkan mikroorganisme intraseluler tersebut (Radji, 2015).

### **2.2.5 Imunomodulasi**

Imunomodulasi merupakan suatu cara untuk mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu atau untuk menekan atau menormalkan fungsi yang berlebihan. Imunomodulator adalah obat yang digunakan untuk untuk mengembalikan ketidakseimbangan sistem imun (Baratawidjaja dan Iris, 2018).

Menurut Baratawidjaja dan Iris (2018) obat imunomodulator bekerja dengan 3 cara yaitu :

- a. Imunorestorasi

Imunorestorasi merupakan suatu cara untuk mengembalikan fungsi sistem imun yang terganggu dengan memberikan berbagai komponen sistem imun seperti imunoglobulin dalam bentuk *immune serum globulin (ISG)*, *hyperimmune serum globulin (HSG)*, plasma dan transplantasi sumsum tulang, *plasmapheresis* (penghilang plasma) dan *leukapheresis* (penghilangan leukosit).

b. Imunosupresi

Imunosupresi adalah suatu cara yang digunakan untuk menekan respon sistem imun seperti kortikosteroid. Cara ini digunakan di klinik terutama pada transplantasi organ dalam usaha mencegah penolakan pada penyakit autoimun untuk menghambat pembentukan antibodi.

c. Imunostimulasi

imunostimulasi adalah cara yang digunakan untuk memperbaiki fungsi sistem tubuh yang abnormal dengan merangsang sistem tersebut menggunakan suatu bahan yaitu imunostimulan. Contohnya adalah interferon.

### BAB III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Januari 2020 sampai Juni 2020 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi dan Laboratorium Patologi Fakultas Kesehatan Universitas Perintis Indonesia.

**Tabel 1.** Waktu pelaksanaan penelitian dalam bulan

KEGIATAN	WAKTU DALAM BULAN									
	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7
Persiapan Proposal	■	■								
Proposal			■							
Persiapan			■	■	■					
Pengumpulan data					■	■	■	■	■	
Analisis data								■	■	■
Penulisan hasil									■	■

Keterangan :

- 10 = Oktober
- 11 = November
- 12 = Desember
- 1 = Januari
- 2 = Februari
- 3 = Maret
- 4 = April
- 5 = Mei
- 6 = Juni
- 7 = Juli

## **3.2 Alat dan Bahan**

### **3.2.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan adalah botol maserasi, corong (*Pyrex*), syringe 1 mL (*Terumo*), kertas saring, batang pengaduk, pipet tetes, pipet ukur (*Pyrex*), aluminium foil, gunting bedah, beaker glass (*Pyrex*), timbangan hewan, timbangan analitik, *stopwatch*, mikropipet (*Eppendorf*), gelas ukur (*Pyrex*), labu ukur (*Pyrex*), erlenmeyer (*Pyrex*), kaca objek, kaca arloji, plat tetes, mortir dan stamper, tabung reaksi (*Pyrex*), rak tabung reaksi, pinset, vial, spatel, alat sonde, pipet leukosit (*Assistent*), alat hemasitometer (*Assistent*), *rotary evaporator* (*Buchi*), spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S UV-VIS*), Mikroskop (*Zeiss Primo Star*).

### **3.2.2 Bahan**

Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd), air suling, larutan NaCl fisiologis 0,9% (*Widatra*), etanol 70%, etanol 95%, kloroform, metanol (*Brataco*), pewarna giemsa (*Merck*), tinta cina (*Yamura*), asam asetat 1% (*Merck*), reagen Turk (*St.Reagensia*), serbuk Mg, HCl pekat, FeCl<sub>3</sub>, Liberman Burchard, Mayer, NaCMC 0,5%, EDTA.

## **3.3 Metode penelitian**

### **3.3.1 Pengambilan sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) yang diambil di daerah Kelurahan Bukik Apit Puhun, Kecamatan Guguk Panjang, Bukit Tinggi, Sumatera Barat.

### **3.3.2 Identifikasi sampel**

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas (UNAND) Padang, Sumatera Barat.

### **3.3.3 Ekstraksi daun piladang**

Daun piladang yang telah diambil dibersihkan dan ditimbang, kemudian dikering anginkan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari langsung. Setelah proses pengeringan, daun kering dirajang, diserbukkan dan ditimbang kembali, kemudian sampel yang telah ditimbang dimasukkan kedalam botol untuk dimaserasi dengan alkohol 70% sampai terendam selama 3 hari sambil sesekali diaduk (Verawati *dkk*, 2019). Maserat disaring menggunakan kapas, ulangi maserasi sampai diperoleh maserat yang jernih dengan cara yang sama dan seluruh filtrat digabungkan menjadi satu dan di aduk hingga rata, kemudian dipisahkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Departemen Kesehatan RI, 2000).

## **3.4. Karakterisasi ekstrak daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd)**

### **3.4.1 Pemeriksaan organoleptis**

Dilakukan dengan pengamatan visual yang meliputi warna, bentuk, bau dan rasa.

### **3.4.2 Pemeriksaan kelarutan**

Pemeriksaan kelarutan dilakukan dengan melarutkan ekstrak kental pada air dan etanol 95% (Djamal, 2010).

### 2.4.3 Penentuan rendemen ekstrak

Sampel yang telah dibersihkan ditimbang (A) dan ekstrak diperoleh ditimbang kembali (B). Rendemen dihitung dengan rumus (Departemen Kesehatan RI, 2008).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{B \text{ (gram)}}{A \text{ (gram)}} \times 100\%$$

Keterangan :

A= berat sampel awal (g)

B = berat ekstrak yang diperoleh (g)

### 2.4.4 Penentuan susut pengeringan (Departemen Kesehatan RI, 2008)

Bertujuan untuk menunjukkan batas maksimum (rentang) senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Krush porselen dipanaskan dalam oven 105°C selama 30 menit, kemudian didinginkan dalam desikator dan berat awal di timbang ( $W_0$ ). Masukkan ekstrak sebanyak 1-2 gram kedalam krush tersebut dan di timbang kembali ( $W_1$ ). Kemudian krush di goyang secara perlahan-lahan agar ekstrak merata. Masukkan ke dalam oven, buka tutup krush dan biarkan kursh terbuka dalam oven. Panaskan selama 1 jam pada suhu 105°C, dinginkan dalam desikator kemudian timbang kembali. Ulangi perlakuan diatas hingga di peroleh bobot tetap. Hasil penimbangan dicatat, dan dihitung susut pengeringannya dengan persamaan :

$$\text{Susut pengeringan} = \frac{(W_1 - W_0) - (W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100 \%$$

Keterangan :  $W_0$  = Kurs timbang (g)

$W_1$  = Kurs timbang + ekstrak (g)

$W_2$  = Kurs timbang + hasil pengeringan (g)

#### 2.4.5 Penetapan kadar abu (Departemen Kesehatan RI, 2000)

Timbanglah krus tabung kosong ( $W_0$ ) kemudian tambahkan ekstrak kedalam sebanyak 2-3 gram kedalam krus yang sudah ditimbang ( $W_1$ ), dipijarkan perlahan-lahan. Kemudian suhu dinaikkan secara bertahap hingga  $600 \pm 25^\circ\text{C}$  sampai bebas karbon, selanjutnya dinginkan dalam desikator, serta timbang berat abu ( $W_2$ ). Kadar abu dihitung dalam persen terhadap berat sampel awal.

$$\text{Kadar abu} = \frac{(W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100 \%$$

Keterangan :  $W_0$  = Berat krus kosong  
 $W_1$  = Berat krus + ekstrak  
 $W_2$  = Berat krus + hasil pemijaran

#### 2.4.6 Pemeriksaan pH ekstrak

Dengan menggunakan pH meter. Alat dikalibrasi terlebih dahulu dengan larutan dapar pH 4 dan larutan dapar pH 7. Kemudian elektroda dicuci dengan aquadest dan dikeringkan dengan tisu. Pengukuran pH ekstrak kental dilakukan dengan cara mengencerkan 1 gram ekstrak kental dengan aquadest dengan 10 ml dalam wadah yang cocok. Elektroda dicelupkan kedalam wadah tersebut dan dibiarkan angka bergerak sampai posisi konstan. Angka yang ditunjukkan pH meter merupakan harga pH ekstrak (Depkes, 1995).

#### 2.4.7 Uji skrining fitokimia

Ekstrak daun piladang dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 ml aquadest dan 5 ml kloroform dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan air dan kloroform (Harborne, 1987).

**a. Uji flavonoid (Metode Sianidin Test)**

Ambil lapisan air 1-2 tetes, diteteskan pada plat tetes lalu ditambahkan serbuk Mg dan HCl (p), terbentuknya warna merah menandakan adanya flavonoid.

**b. Uji saponin**

Ambil lapisan air, dikocok kuat-kuat dalam tabung reaksi, terbentuknya busa yang permanen ( $\pm$  15 menit) menunjukkan adanya saponin (Harborne, 1987).

**c. Uji terpenoid dan steroid (Metode Simes)**

Ambil sedikit lapisan kloroform ditambahkan norit, ditambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (p), ditambahkan asam asetat anhidrat, terbentuknya warna biru ungu menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuk warna merah menunjukkan adanya terpenoid (Sangi *dkk*, 2008).

**d. Uji alkaloid (Metode Culvenore-Fitzgerald)**

Ambil sedikit lapisan kloroform tambahkan 10 ml kloroform amoniak 0.05 N, aduk perlahan tambahkan beberapa tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N kemudian dikocok perlahan, biarkan memisah, lapisan asam ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

**e. Uji fenolik**

Ambil lapisan air 1-2 tetes, teteskan pada plat tetes lalu tambahkan pereaksi FeCl<sub>3</sub>, terbentuknya warna biru menandakan adanya kandungan fenolik.

## **2.5 Uji aktivitas imunomodulasi dengan metode *Carbon Clearance***

### **3.5.1 Penyiapan hewan percobaan**

Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan sebanyak 20 ekor dengan berat badan 25-30 g, umur 2-3 bulan, sehat dan belum pernah mendapat perlakuan terhadap obat. Dikelompokkan dalam 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Sebelum diperlakukan, mencit di aklimatisasi selama 7 hari dan diberi makan dan minum yang cukup. Mencit yang akan digunakan adalah mencit yang sehat dan tidak menunjukkan perubahan berat badan yang berarti (deviasi maksimal 10%) serta secara visual menunjukkan perlakuan yang normal.

### **3.5.2 Dosis yang direncanakan**

Sebanyak 20 ekor mencit dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit, yang diberi perlakuan dosis yang terdiri dari 3 variasi yaitu 200 mg/KgBB, 400 mg/KgBB dan 600 mg/KgBB. Variasi dosis tersebut digunakan berdasarkan adanya penelitian sebelumnya (Maharani, 2015), berdasarkan penelitian tersebut dibuktikan bahwa dengan penggunaan variasi dosis tersebut telah terbukti dapat menurunkan volume edema dan mempengaruhi jumlah sel leukosit pada cairan eksudat dan darah seperti neutrofil segmen, neutrofil batang, monosit serta limposit.

### **3.5.3 Persiapan sediaan uji**

#### **1. Pembuatan suspensi karbon koloid**

Serbuk karbon ditimbang sebanyak 1,6 gram, setelah itu serbuk karbon disuspensikan dengan NaCMC 0,5 % dalam 25 mL NaCl Fisiologis 0,9 % sehingga diperoleh konsentrasi 64 mg/mL (6,4 %).

## 2. Penetapan kadar karbon

Tinta cina sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam cawan penguap dan diuapkan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Pengeringan kemudian dilanjutkan dalam desikator sampai mencapai berat konstan.

## 3. Pembuatan kurva baku karbon

Tinta cina yang telah dikeringkan ditimbang sebanyak 100 mg, kemudian ditambahkan asam asetat 1% sampai volumenya 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Masing-masing larutan dipipet sebanyak 8, 7, 6, 5, 4 ml dan dicukupkan dengan asam asetat 1% hingga volume 50 ml, sehingga didapatkan konsentrasi kadar karbon 160, 140, 120, 100, 80 ppm. Dari masing-masing kadar tersebut dipipet sebanyak 4 ml dan ditambahkan darah mencit sebanyak 75  $\mu$ L. Setelah dihomogenkan, ukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 638 nm yang merupakan daerah serapan untuk karbon. Plot absorban yang diperoleh dengan kadar karbon digunakan untuk membuat kurva kalibrasi. Sebagai blanko digunakan darah mencit putih jantan dan aquadest.

## 4. Penyiapan suspensi ekstrak daun piladang

Suspensi ekstrak daun piladang Na CMC 0,5% dibuat dengan cara Na CMC ditimbang 25 mg dikembangkan dengan air panas 20 kalinya, setelah mengembang digerus hingga homogen, kemudian ditambahkan ekstrak daun Piladang sesuai dengan konsentrasi ekstrak yang telah direncanakan, digerus homogen dan dicukupkan dengan aquadest sampai volume 50 mL.

Konsentrasi ini dapat ditetapkan berdasarkan rumus :

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis} \left( \frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{Berat badan} \left( \frac{\text{gr}}{\text{BB}} \right)}{\text{VAO (mL)}}$$

Dosis I : 200 mg/KgBB

Dosis II : 400 mg/KgBB

Dosis III : 600 mg/KgBB

VAO = 1% x berat badan

= 1% x 20 g

= 0,2 mL

$$\text{Konsentrasi dosis I} = \frac{\text{Dosis} \left( \frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{berat badan} (\text{grBB})}{\text{VAO (mL)}}$$

$$= \frac{\frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ gr}} \times 20 \text{ grBB}}{0,2 \text{ mL}}$$

$$= 20 \text{ mg/mL}$$

$$= 2000 \text{ mg/100 mL}$$

$$= 2 \text{ gr / 100 mL}$$

$$= 2\%$$

Untuk konsentrasi dosis II dan III perhitungan mengikuti cara diatas masing masing yaitu 4% dan 6%.

### 3.5.4 Penyiapan Aktivitas Ekstrak Daun Piladang

#### 1. Pengujian uji aktivitas fagositosis ( Metode *Carbon Clearance*)

Mencit dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri atas kelompok kontrol diberi NaCMC 0,5%, tiga kelompok diberikan sediaan ekstrak daun piladang. Pemberian sediaan uji dilakukan secara oral 1 kali sehari selama 6 hari berturut-turut pada hewan percobaan sesuai dengan dosis. Pada hari ke-7, ekor mencit dibasahi dengan etanol dengan menggunakan kapas agar pembuluh darah vena berdilatasi kemudian ujung ekor mencit dipotong dan darah ditampung pada plat tetes yang telah diberikan sedikit EDTA, dihomogenkan. Darah diambil sebanyak 75  $\mu$ L dan dilisis dengan 4 mL asam asetat 1%. Darah ini digunakan sebagai banko (menit ke-0), kemudian suspensi karbon 0,1 mL / 10 g BB disuntikkan secara intravena, darah mencit kemudian diambil 75  $\mu$ L pada menit ke- 3,6,9,12 dan 15. Masing-masing darah dilisis dengan 4 mL asam asetat 1% lalu diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 638 nm (Aldi, 2014). Mencit yang telah diuji bersihan karbon tersebut dikorbankan untuk diambil dan ditimbang bobot limpanya satu per satu. Perhitungan konstanta fagositosis (K) dan indeks fagositosis (IF) dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$K = \frac{\text{Log A (n)} - \text{Log A (n - 1)}}{t (n - 1) - t(n)}$$

Keterangan :

K = Konstanta fagositosis  
t = Waktu ( 3, 6, 9, 12, 15 menit)  
n = Pengamatan ke-n (n=1 , 2, 3, 4, 5)

A(n) = Absorban pada waktu ke-n  
A(n-1) = Absorban pada waktu ke-(n-1)

Perhitungan harga indeks fagositosis dengan rumus sebagai berikut :

$$IF = \frac{\text{Konstanta fagositosis X menit ke (t)}}{\text{Konstanta fagositosis kontrol menit ke (t)}}$$

Keterangan :

IF = Indeks fagositosis  
Mencit X = Mencit yang sudah diperlukan dan ditentukan harga konstanta fagositosisnya.  
t = (menit ke 3, 6, 9, 12 dan 15)

Indeks fagositosis dari tiap kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol.

## 2. Perhitungan jumlah total sel leukosit darah dengan haemocytometer

Darah segar diberikan EDTA dihisap dengan pipet leukosit sampai angka 0,5. Kemudian dihisap larutan turk sampai angka 11. Pipet dikocok selama 3 menit dengan alat dari dalam pipet 1-2 tetes pertama dibuang, tetesan berikutnya dimasukkan dalam kamar hitung. Biarkan selama 2 menit agar leukosit mengendap kemudian jumlah total sel leukosit dihitung pada ke-4 sudut kamar hitung. Perhitungan dilakukan mulai dari sudut kiri atas, terus kekanan; kemudian turun kebawah dan dari kanan ke kiri; lalu turun lagi kebawah dan dimulai lagi dari kiri ke kanan. Cara ini dilakukan pada keempat kamar hitung. Sel-sel yang menyinggung garis batas sebelah kiri atau garis atas harus dihitung. Sebaliknya sel-sel yang menyinggung garis batas sebelah kanan atau bawah tidak boleh dihitung. Pengenceran yang terjadi didalam pipet adalah 20 kali. Luas setiap bidang kecil adalah  $1 \text{ mm}^2$  dan tinggi setiap kamar hitung  $1/10 \text{ mm}^2$ . Sehingga jumlah leukosit yang dihitung dikali faktor

pengenceran (20) dan dibagi dengan volume yang dihitung yaitu  $4 \times 1 \text{ mm}^2 \times 1/10 \text{ mm}^2 = 0,4 \text{ mm}^2$  (Gandasoebrata, 2013).

$$\text{Jumlah total sel leukosit} = \frac{\text{Jumlah sel leukosit} - \text{Faktor pengenceran}}{\text{Volume yang dihitung}}$$

3. Perhitungan jumlah jenis sel leukosit dengan metode hapusan darah

Satu tetes darah menit ke-0 ditetaskan di atas kaca objek dan diratakan dengan kaca objek lain sehingga diperoleh hapusan darah lalu dikering anginkan. Setelah kering ditetaskan metanol hingga melapisi seluruh hapusan darah lalu di biarkan selama 5 menit. Kemudian dimasukkan 1 tetes larutan pewarna giemsa yang telah diencerkan dengan air suling (1:20), dibiarkan 20 menit, dibilas dengan air suling, dikering anginkan dan ditambah dengan minyak emersi. Dihitung jumlah jenis sel eusinofil, neutrofil batang, neutrofil segmen, limfosit dan monosit dibawah mikroskop pada perbesaran 40X (Gandasoebrata, 2013).

4. Perhitungan bobot limpa relatif

Mencit dibedah dan diambil limpa yang berada disebelah kiri rongga perut yang berwarna merah kehitaman diambil dan dibersihkan dari lemak yang menempel lalu ditimbang dengan timbangan analitik (Aldi, 2016). Persen bobot limpa relatif dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Bobot limpa relatif} = \frac{\text{bobot limpa (gr)}}{\text{berat badan mencit (gr)}} \times 100\%$$

### 3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini yaitu indeks fagositosis, persentase jenis sel leukosit, jumlah total leukosit dan bobot limpa relatif dianalisis secara statistik dengan ANOVA (*Analysis of variance*) yang berfungsi untuk mengetahui signifikansi perbedaan rata-rata setiap kelompok sampel, data yang didapatkan berupa data kategorik dan numerik yang bersifat objektif. Konsentrasi yang diujikan lebih dari satu. metode uji statistik analisis varian pada uji aktivitas imunomodulasi adalah menggunakan ANOVA dua arah dikarenakan pada penelitian ini menggunakan 2 variabel bebas yaitu variasi dosis dan waktu, sedangkan jumlah total sel leukosit, persentase jenis sel leukosit dan bobot limpa relatif adalah menggunakan ANOVA satu arah dikarenakan pada penelitian ini menggunakan satu variabel bebas yaitu variasi dosis. Jika hasil yang diperoleh signifikan ( $P \leq 0,05$ ) maka dilanjutkan dengan uji Duncan (*Duncan New MultipleRange Test*) menggunakan *software* statistic SPSS 23.0 for Windows *Evaluation*, Uji Duncan berfungsi untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan hasil antara masing-masing kelompok perlakuan.

## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

Setelah dilakukan penelitian mengenai aktivitas imunomodulasi ekstrak etanol daun piladang, maka didapatkan hasil sebagai berikut :

1. Identifikasi sampel yang dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Andalas menyatakan bahwa tumbuhan piladang yang digunakan termasuk dari keluarga Lamiaceae, spesies *Solesnostemon scutellarioides* (L.) Codd (Lampiran 1, Gambar 6).
2. Dari sampel segar daun piladang sebanyak 10 kg didapatkan berat kering sebanyak 1,400 kg, setelah mengalami proses ekstraksi didapatkan ekstrak sebesar 304,44 gr dengan rendemen sampel basah sebesar 3,04% dan rendemen sampel kering sebesar 21,74% (Lampiran 5, Tabel 2).
3. Pada pemeriksaan organoleptis ekstrak daun piladang didapatkan hasilnya berbentuk cairan kental, warna coklat kehitaman, berbau khas dan rasa pahit (Lampiran 5, Tabel 3).
4. Ekstrak etanol daun piladang larut terhadap air dan mudah larut terhadap etanol 96% (Lampiran 5, Tabel 3).
5. Susut pengeringan ekstrak adalah 10,06% dan kadar abu ekstrak didapatkan 5.68% (Lampiran 5, Tabel 4).
6. PH ekstrak etanol daun piladang adalah 4,72 (Lampiran 5, Tabel 3).
7. Pemeriksaan uji fitokimia terhadap ekstrak daun piladang yaitu mengandung flavonoid, fenolik, steroid, saponin dan alkaloid (Lampiran 5, Tabel 3).

8. Konstanta fagositosis rata-rata kelompok kontrol adalah 0,039, kelompok dosis 200 mg/kgBB adalah 0,044, kelompok dosis 400 mg/kgBB adalah 0,063 dan kelompok dosis 600 mg/kgBB adalah 0,072 (Lampiran 6, Tabel 9).
9. Nilai indeks fagositosis rata-rata pada kelompok uji yang diberi ekstrak daun piladang dengan dosis 200 mg/kgBB adalah 1,11, kelompok uji dengan dosis 400 mg/kgBB adalah 1,64 dan kelompok uji dengan dosis 600 mg/kgBB adalah 1,85 (Lampiran 6, Tabel 10).
10. Jumlah total leukosit darah mencit pada kelompok kontrol adalah 5.890 sel/ $\mu$ L, pada kelompok uji yang diberi ekstrak daun piladang dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB masing-masing adalah 6.340 sel/ $\mu$ L, 6.490 sel/ $\mu$ L dan 10.700 sel/ $\mu$ L (Lampiran 6, Tabel 12).
11. Jumlah jenis sel leukosit pada kelompok kontrol, kelompok dosis 200 mg/kgBB, kelompok dosis 400 mg/kgBB dan kelompok dosis 600 mg/kgBB terhadap sel eosinofil berturut adalah 1,2; 1,8; 2,4 dan 2,8, pada sel neutrofil batang adalah 3,4; 3,8; 5,2 dan 6,4, pada neutrofil segmen adalah 49,4; 50,8; 60 dan 70, pada limfosit adalah 27,8; 30; 36,8 dan 42,8 serta pada monosit adalah 6,2; 8,8; 9,4 dan 10,4 (Lampiran 8, Tabel 14).
12. Persentase bobot limpa relatif pada kelompok kontrol, kelompok dosis 200 mg/kgBB, kelompok dosis 400 mg/kgBB dan kelompok dosis 600 mg/kgBB secara berturut-turut adalah 0,36%, 0,43%, 0,58% dan 0,77% (Lampiran 9, Tabel 19).

## 4.2 Pembahasan

Penelitian tentang Aktivitas Imunomodulasi Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Pada Mencit Putih Jantan Dengan Metode *Carbon Clearance* telah dilakukan pada bulan Januari 2020 sampai bulan Juni 2020 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi dan Laboratorium Patologi Fakultas Kesehatan Universitas Perintis Indonesia.

Pada penelitian ini, sampel yang digunakan adalah daun piladang yang diambil di daerah kelurahan Bukit Apit puhun, kecamatan Guguk panjang, Bukit tinggi, Sumatra Barat. Alasan pengambilan sampel didaerah tersebut karena iklim daerah yang baik sehingga diharapkan terdapat kandungan bahan berkhasiat yang tinggi. Sebelum penelitian, sampel diidentifikasi di Herbarium jurusan Biologi FMIPA, Universitas Andalas. Identifikasi bertujuan untuk mengetahui identitas sampel yang akan digunakan. Berdasarkan hasil identifikasi menunjukkan bahwa tumbuhan piladang yang akan digunakan termasuk dari keluarga Lamiaceae dan nama spesies *Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd dengan nomor identifikasi 403/K-ID/ANDA/XI/2019. Daun piladang digunakan karena pada penelitian sebelumnya telah diketahui adanya khasiat sebagai antiinflamasi (Maharani, 2015).

Ekstrak piladang diperoleh dengan melakukan proses ekstraksi terlebih dahulu, metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi yaitu ekstraksi yang menggunakan pelarut dengan beberapa pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan. Metode maserasi dipilih karena pelaksanaannya sederhana, menghindari kemungkinan terjadinya penguraian zat aktif yang terkandung dalam sampel akibat pengaruh suhu dan senyawa yang tidak tahan pemanasan dan dapat

digunakan untuk sampel dalam jumlah banyak. Sebelum dimaserasi daun piladang segar yang sudah dibersihkan sebanyak 10 kg dikering anginkan selama 2 minggu, proses pengeringan ini bertujuan agar kadar air sampel berkurang, sampel lebih awet dan memudahkan pelarut dalam menarik komponen bioaktif sampel dan diserbukkan agar proses ekstraksi lebih efektif dan efisien (Depkes, 2000). Sampel yang telah kering kemudian ditimbang sehingga didapatkan berat daun 1.400 gr. Sampel dimaserasi dengan pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, pelarut yang digunakan adalah pelarut etanol 70% karena bersifat universal yang dapat menarik senyawa polar, semipolar dan nonpolar sehingga bisa melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak dan sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol) (Depkes, 2000). Hal ini juga diperkuat oleh Depkes (2008) bahwa pelarut yang digunakan untuk maserasi adalah pelarut etanol 70%. Sampel kering direndam selama 3 hari dan diulangi sampai maserat jernih. Kemudian dilakukan penguapan pelarut terhadap maserat untuk mendapatkan senyawa aktif atau ekstrak kental dengan menggunakan *rotary evaporator*.

Ekstrak kental yang didapatkan adalah 304,44 gr dengan rendemen dari sampel kering 21,74% dan rendemen dari sampel segar 3,04%. Tujuan dari penentuan rendemen adalah untuk mengetahui perbandingan jumlah (kuantitas) ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi tanaman. Seluruh ekstrak kental yang didapatkan digunakan untuk 3 judul penelitian. Uji pemeriksaan pada ekstrak etanol daun piladang meliputi pemeriksaan organoleptis dimana ekstrak daun piladang memiliki bentuk berupa cairan kental, bau yang khas, rasa pahit dan

berwarna coklat kehitaman. Uji fitokimia ini untuk memberikan informasi golongan kandungan kimia sebagai parameter mutu ekstrak dalam kaitannya dengan efek farmakologis, hasil uji ini memberikan hasil bahwa ekstrak etanol daun piladang ini memiliki kandungan flavonoid, saponin, steroid, alkaloid dan fenolik. Kelarutan ekstrak mudah larut dalam alkohol 96% dan larut dalam air. pH ekstrak 4,72 yaitu bersifat asam (Lampiran 5, Tabel 3) dan pemeriksaan kadar abu sampel ditentukan untuk mengetahui kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai akhir terbentuknya (Depkes, 2008), kadar abu yang didapatkan adalah kadar abu 5,68% yang masih memenuhi standar kadar abu (tidak lebih dari 8%) (Lampiran 5, Tabel 5). Pemeriksaan susut pengeringan untuk memberikan batas maksimal atau rentang tentang besarnya senyawa yang hilang selama proses pengeringan (Depkes, 2008) dan hasil pemeriksaan susut pengeringan adalah 10,06% (Lampiran 5, Tabel 4).

Ekstrak etanol daun piladang dibuat sebagai sediaan uji dalam bentuk suspensi. Pensuspensi yang digunakan adalah NaCMC 0,5% karena bersifat inert sehingga tidak mempengaruhi khasiat zat aktif, resistensi yang baik terhadap mikroba, stabil, tidak mengiritasi dan tidak toksik (Rowe, 2009). Suspensi ekstrak dibuat berdasarkan dosis yang telah ditetapkan, pemberian ekstrak selama 6 hari berturut-turut kepada hewan percobaan bertujuan untuk memberikan kesempatan kepada ekstrak untuk meningkatkan respon imun dengan cara meningkatkan sel sistem imun didalam tubuh. PMN yang dilepaskan oleh sumsum tulang belakang masuk kedalam darah dan hanya bertahan didalam darah 6-7 jam, kemudian masuk ke jaringan dan bertahan 4-5 hari. Monosit dalam sirkulasi darah bertahan selama 1-3 hari sebelum masuk ke dalam jaringan. Baik monosit maupun PMN setelah

dilepas dari sumsum tulang umumnya tidak lagi mengalami mitosis, sehingga bila kebutuhannya meningkat akan diproduksi oleh sumsum tulang dan dari pelepasan persediaan yang ada didalam sumsum tulang (Radji, 2015).

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit putih jantan. Alasan pemilihan hewan percobaan mencit putih jantan karena mencit mempunyai fisiologis yang mirip dengan manusia, mudah untuk diperlakukan dan sistem imun tidak dipengaruhi oleh hormon estrogen seperti halnya mencit betina. Sebelum diberi perlakuan, hewan percobaan ini diaklimatisasikan selama tujuh hari agar mencit beradaptasi terhadap lingkungan percobaan serta menghindari stress selama perlakuan berlangsung, hewan yang memiliki perlakuan menyimpang harus dipisahkan agar tidak mempengaruhi kondisi percobaan hewan lainnya. hewan percobaan dikelompokkan atas 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit.

Metode *Carbon Clearance* merupakan metode untuk pengujian kemampuan fagositosis dengan cara mengukur darah hewan percobaan pada menit ke-3,6,9,12 dan 15 menggunakan spektrofotometri (Zilhada *dkk*, 2012). Karbon sebagai benda asing akan difagosit oleh sel-sel fagositosis seperti neutrofil, monosit, makrofag dan eosinofil (Baratawidjaya, 2018). karbon yang digunakan adalah tinta cina karena ukuran partikel lebih kecil sehingga tidak terjadi penyumbatan pada pembuluh darah dan paru-paru sedangkan tujuan dikeringkan adalah mendapatkan karbon untuk pembuatan larutan koloid terukur secara kuantitatif.

Pada uji penetapan kadar karbon dapat diketahui kadar karbon tinta cina yang digunakan adalah 25,0627% (Lampiran 6, Tabel 6). Pembuatan suspensi karbon dilakukan dengan penambahan NaCMC 0,5% dengan konsentrasi 6,4% dan

pelarut yang digunakan adalah NaCl Fisiologis yang bertujuan agar kondisi sedian suspensi karbon sama dengan kondisi tubuh mencit.

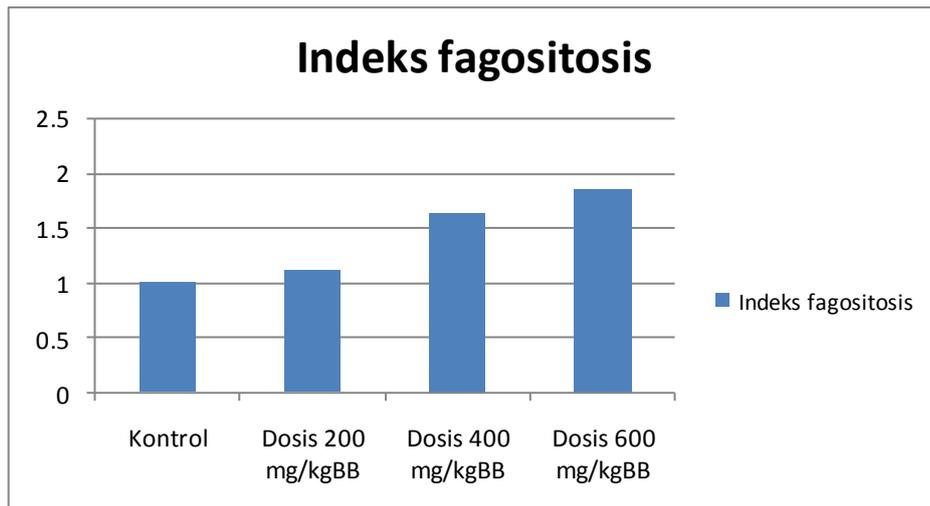
Efek fagositosis uji bersihan karbon dapat dilihat melalui kurva baku antara kadar karbon dalam darah dengan nilai absorban. Nilai absorban didapatkan menggunakan spektrofotometer UV-Vis *double-beam* dimana blanko diukur bersamaan dengan larutan yang digunakan dalam satu kali proses yang sama (Harmita, 2009). Panjang gelombang maksimal karbon pada penelitian sebelumnya adalah 650 nm dan setelah dilakukan pengukuran ulang didapatkan bahwa terjadi pergeseran panjang gelombang maksimal menjadi 638 nm, pergeseran ini terjadi dikarenakan ada pengaruh lain seperti jenis pelarut, pH larutan, suhu, konsentrasi tinggi dan zat-zat pengganggu (Gandjar dan Rohman, 2007). Dari kurva baku tersebut diperoleh persamaan regresi absorban dan konsentrasi absorban yaitu  $y = 0,098x + 0,120$ ,  $R^2 = 0,9997$  (Lampiran 6, Tabel 7). Pembuatan kurva baku ini berguna untuk melihat hubungan linear antara kadar karbon dalam darah dengan density optik (Lampiran 6, Gambar 19).

Berdasarkan penelitian dengan menggunakan metoda *Carbon Clearance* dapat dilihat nilai absorban pada semua kelompok dosis yaitu dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB bahwa ekstrak etanol daun piladang memberikan penurunan terhadap jumlah atau kadar karbon yang mengindikasikan bahwa adanya respon imun dari tubuh terhadap masuknya zat asing. Hal tersebut diperkuat oleh pendapat Baratawidjaja (2018) yang menyatakan bahwa sistem imun nonspesifik maupun spesifik berfungsi untuk melindungi antigen yang masuk ke dalam tubuh oleh semua sel sistem imun berasal dari sumsum tulang seperti neutrofil, basofil, eosinofil, makrofag dan SD dan sel limfoid seperti

limfosit B,T dan NK) yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis secara cepat dan efisien dalam menyingkirkan antigen.

Konstanta fagositosis dapat dihitung dari nilai absorban yang didapatkan, konstanta fagositosis merupakan parameter yang menunjukkan kecepatan proses fagositosis yang menunjukkan bahwa semakin besar nilai konstanta fagositosis maka semakin tinggi kecepatan bersihan karbon. Rata-rata konstanta yang didapatkan yaitu pada kontrol 0.039, dosis 200 mg/kgBB 0.044, dosis 400 mg/kgBB 0.063 dan dosis 600 mg/kgBB 0.072 (Lampiran 6, Tabel 9). Hal ini membuktikan bahwa terjadi peningkatan aktivitas fagositosis pada masing-masing kelompok variasi dosis.

Nilai indeks fagositosis dapat dihitung setelah diketahui nilai konstanta fagositosis. Nilai konstanta fagositosis berbanding lurus dengan nilai indeks fagositosis dimana semakin besar nilai konstanta fagositosis dan nilai indeks fagositosis yang dihasilkan maka semakin cepat pula sel fagositik melakukan proses fagositosis. Rata-rata indeks fagositosis yang didapat yaitu kelompok kontrol, kelompok dosis 200 mg/kgBB, kelompok dosis 400 mg/kgBB dan kelompok dosis 600 mg/kgBB secara berturut-turut adalah 1,00; 1,11; 1,64 dan 1,85 (Lampiran 6, Tabel 10). Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa zat uji bersifat imunomodulator yaitu imunostimulant karena indeks fagositosis besar dari satu ( $IF > 1$ ). Artinya ada hubungan peningkatan dosis dengan nilai indeks fagositosis, yaitu semakin besar peningkatan dosis maka nilai indeks fagositosis semakin tinggi dan nilai indeks fagositosis yang didapatkan menunjukkan bahwa adanya aktivitas fagositosis sel-sel fagositik terhadap karbon yang dijadikan sebagai marker akibat dari pengaruh pemberian ekstrak etanol daun piladang.



**Gambar 2.** Diagram Perbandingan Indeks Fagositosis Pada Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

Berdasarkan uji ANOVA dua arah dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak etanol daun piladang selama 6 hari dapat mempengaruhi indeks fagositosis secara signifikan ( $p < 0,05$ ) artinya indeks fagositosis kelompok kontrol berbeda nyata dengan indeks fagositosis kelompok uji (Lampiran 6, Tabel 11).

Berdasarkan uji lanjut duncan ANOVA dua arah terhadap kelompok dosis diperoleh hasil bahwa indeks fagositosis kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan indeks fagositosis kelompok dosis 200 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan indeks fagositosis kelompok dosis 400 mg/kgBB dan kelompok dosis 600 mg/kgBB. Indeks fagositosis kelompok dosis 200 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan indeks fagositosis kelompok kontrol tetapi berbeda nyata dengan indeks fagositosis kelompok dosis 400 mg/kgBB dan kelompok dosis 600 mg/kgBB. Indeks fagositosis kelompok dosis 400 mg/kgBB berbeda nyata dengan indeks fagositosis kelompok kontrol, kelompok dosis 200 mg/kgBB dan kelompok dosis 600 mg/kgBB. Indeks fagositosis kelompok dosis 600 mg/kgBB berbeda nyata

dengan dengan indeks fagositosis kelompok kontrol, kelompok 200 dosis mg/kgBB dan kelompok dosis 400 mg/kgBB. Berdasarkan uji duncan tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun piladang selama 6 hari pada dosis 400 mg/kgBB dan dosis 600 mg/kgBB mempengaruhi indeks fagositosis karena berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Lampiran 6, Tabel 11). Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa dosis dapat mempengaruhi indeks fagositosis dan dosis paling efektif adalah dosis 600 mg/kgBB.

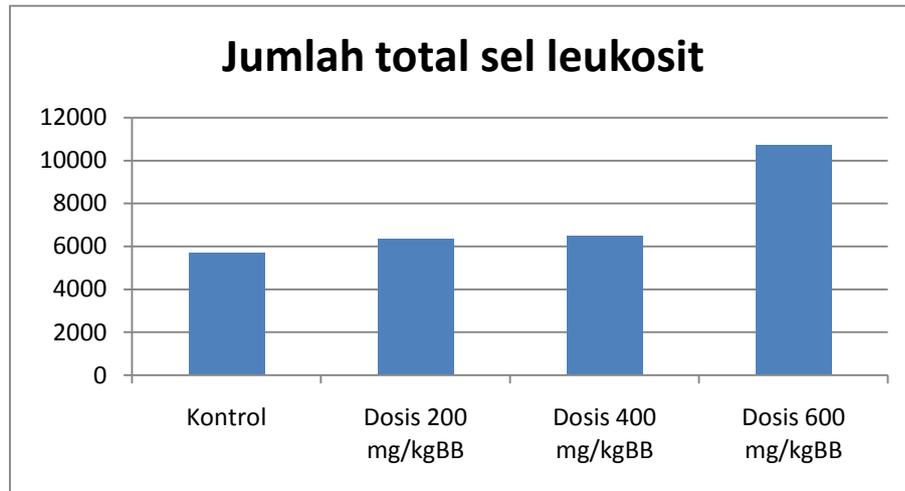
Peningkatan indeks fagositosis memberikan gambaran efek ekstrak etanol daun piladang terhadap respon imun. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin dan tanin dari daun piladang yang berperan sebagai imunostimulan. Pernyataan diperkuat oleh penelitian yang sebelumnya mengenai fungsi imunitas seluler membuktikan bahwa senyawa flavonoid dapat memacu proliferasi limfosit, meningkatkan jumlah sel T, sehingga akan merangsang sel - sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis (Jiao, 1999).

Senyawa aktif seperti saponin merupakan zat aktif yang diduga meningkatkan sistem kekebalan tubuh dengan cara meningkatkan produksi sitokin seperti interleukin dan interferon. Kemudian senyawa tanin juga dapat mempengaruhi aktivitas fisiologi seperti menstimulasi sel fagosit, antitumor, dan antiinfeksi (Haslam, 1996). Mekanisme imunostimulan pada daun piladang kurang lebih sama seperti mekanisme tanaman yang mengandung senyawa yang dijelaskan diatas, yaitu dengan cara meningkatkan jumlah proliferasi T-limfosit, sel T CD4 dan TNF- $\alpha$  (Pakadang *et al*, 2015).

Perhitungan terhadap total sel leukosit dilakukan dengan menggunakan haemocytometer dimana jumlah total sel leukosit rata-rata pada kelompok kontrol negatif 5.890 sel/ $\mu$ L, pada dosis 200 mg/kgBB 6.340 sel/ $\mu$ L, pada dosis 400 mg/kgBB 6.490 sel/ $\mu$ L dan pada dosis 600 mg/kgBB 10.700 sel/ $\mu$ L (Lampiran 7, Tabel 12). Berdasarkan uji ANOVA satu arah dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak daun piladang selama 6 hari dapat mempengaruhi jumlah total sel leukosit secara signifikan ( $P < 0,05$ ) (Lampiran 7, Tabel 13) artinya jumlah total sel leukosit kelompok kontrol berbeda nyata dengan jumlah total leukosit kelompok uji.

Berdasarkan uji duncan, diperoleh hasil bahwa jumlah total sel leukosit pada kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan jumlah total sel leukosit kelompok dosis 200 mg/kgBB dan kelompok dosis 400 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan jumlah total sel leukosit kelompok dosis 600 mg/kgBB. Jumlah total sel leukosit pada kelompok dosis 200 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan jumlah total sel leukosit kelompok kontrol dan kelompok dosis 400 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan jumlah total sel leukosit kelompok dosis 600 mg/kgBB. Jumlah total sel leukosit kelompok dosis 400 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan jumlah total sel leukosit kelompok kontrol dan kelompok dosis 200 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan jumlah total sel leukosit kelompok dosis 600 mg/kgBB. Jumlah total sel leukosit pada kelompok dosis 600 mg/kgBB berbeda nyata dengan jumlah total sel leukosit kelompok kontrol, kelompok dosis 200 mg/kgBB dan kelompok dosis 400 mg/kgBB. Berdasarkan uji duncan disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun piladang pada kelompok dosis 200 mg/kgBB dan kelompok dosis 400 mg/kgBB tidak mempengaruhi total sel leukosit karena tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol, namun pemberian

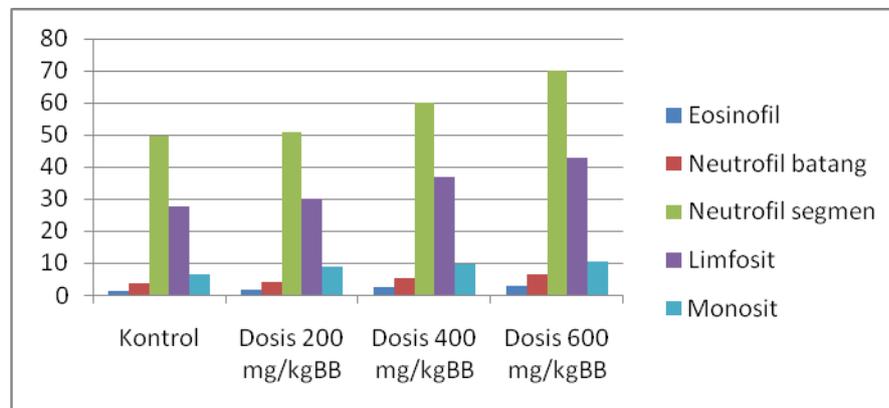
pada kelompok dosis 600 mg/kgBB mempengaruhi total sel leukosit (Lampiran 7, Tabel 13).



**Gambar 3.** Diagram Jumlah Total Sel Leukosit Pada Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellaroides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

Perhitungan jumlah jenis sel leukosit seperti eosinofil, sel neutrofil batang, sel neutrofil segmen, limfosit dan monosit dilakukan dengan menggunakan metode hapusan darah. Dimana pada metode ini yang digunakan adalah minyak emersi sebagai penjelas bentuk sel leukosit dan giemsa sebagai pewarna. Pada metode ini basofil yang bersifat basa tidak bisa dihitung karena sel basofil ini akan larut dengan pewarna giemsa. Dari perhitungan jumlah jenis sel leukosit didapatkan hasil bahwa jumlah jenis sel leukosit pada kelompok kontrol, kelompok dosis 200 mg/kgBB, kelompok dosis 400 mg/kgBB dan kelompok dosis 600 mg/kgBB terhadap sel eosinofil berturut adalah 1,2; 1,8; 2,4; dan 2,8 pada sel neutrofil batang adalah 3,4; 3,8; 5,2; dan 6,4 pada neutrofil segmen adalah 49,4; 50,8; 60 dan 70 pada limfosit adalah 27,8; 30; 36,8 dan 42,8 serta pada monosit adalah 6,2; 8,8; 9,4 dan 10,4 (Lampiran 8, Tabel 14). Hasil uji statistik menggunakan analisis ANOVA satu arah, terlihat bahwa pemberian

ekstrak daun piladang pada mencit putih jantan selama 6 hari mempengaruhi semua jenis sel leukosit dengan signifikan ( $P < 0,05$ ) Artinya, jumlah jenis sel leukosit kelompok kontrol berbeda nyata dengan jumlah jenis sel leukosit pada kelompok uji.



**Gambar 4.** Diagram Jumlah Jenis Sel Leukosit Pada Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

Uji lanjut duncan terhadap jumlah eosinofil setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang selama 6 hari diperoleh hasil bahwa jumlah eosinofil kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan jumlah eosinofil kelompok dosis 200 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan jumlah eosinofil kelompok dosis 400 mg/kgBB dan kelompok dosis 600 mg/kgBB. Jumlah eosinofil kelompok dosis 200 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan jumlah eosinofil kelompok kontrol dan kelompok dosis 400 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan kelompok dosis 600 mg/kgBB atau efek kelompok dosis 200 mg/kgBB berada diantara kelompok kontrol dan kelompok dosis 400 mg/kgBB (Lampiran 8, Tabel 15). Jumlah eosinofil kelompok dosis 400 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan jumlah eosinofil kelompok dosis 200 mg/kgBB dan kelompok dosis 600 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan jumlah eosinofil kelompok kontrol. Jumlah eosinofil

kelompok dosis 600 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan jumlah eosinofil kelompok dosis 400 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Lampiran 8, Tabel 15). Begitu juga dengan hasil uji Duncan pada jumlah monosit (Lampiran 8, Tabel 19).

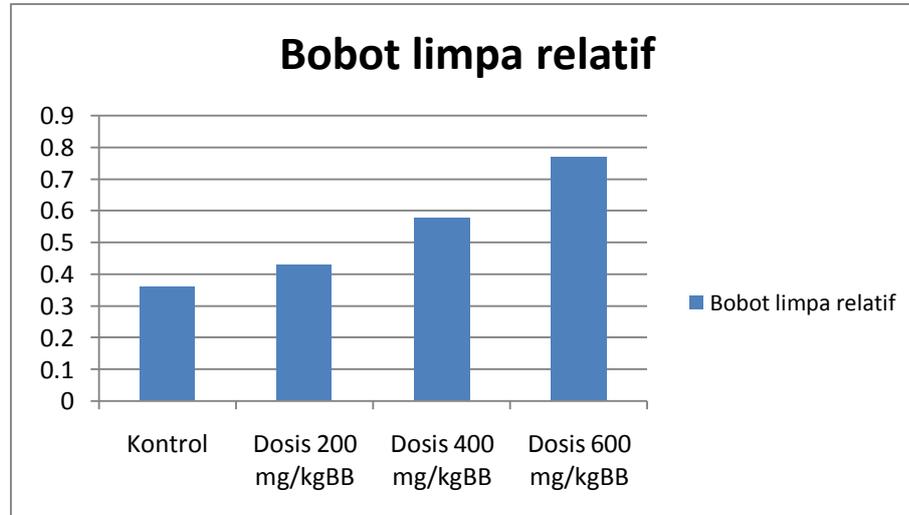
Uji lanjut duncan terhadap jumlah neutrofil batang setelah pemberian ekstrak etanol daun piladang selama 6 hari diperoleh hasil bahwa kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan kelompok dosis 200 mg/kgBB, kelompok dosis 400 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan kelompok dosis 600 mg/kgBB. Jumlah neutrofil batang kelompok dosis 200 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan kelompok dosis kontrol dan kelompok dosis 400 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan jumlah neutrofil batang kelompok dosis 600 mg/kgBB. Jumlah neutrofil batang kelompok dosis 400 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan jumlah neutrofil batang kelompok kontrol dan kelompok dosis 200 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan kelompok dosis 600 mg/kgBB atau efek dosis 400 mg/kgBB berada diantara dosis 200 mg/kgBB dan dosis 600 mg/kgBB. Jumlah neutrofil batang kelompok dosis 600 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan jumlah neutrofil batang kelompok 400 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan jumlah neutrofil batang kelompok kontrol dan kelompok dosis 200 mg/kgBB (Lampiran 8. Tabel 16). Begitu juga dengan hasil uji Duncan terhadap jumlah neutrofil segmen (Lampiran 8, Tabel 17) dan jumlah limfosit (Lampiran 8, Tabel 18). Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa dosis dapat mempengaruhi jumlah jenis sel leukosit.

Limpa dari mencit digunakan untuk uji respon imun spesifik. penimbangan limpa ini dihitung pada akhir eksperimen. Antigen yang dibawa oleh darah ditangkap kemudian dikonsentrasikan oleh sel-sel dendritik serta

makrofag di dalam limpa. Limpa mengandung banyak sekali fagosit, yang memakan serta menghancurkan antigen didalam darah (Abbas, 2016). Limpa bereaksi terhadap antigen yang terbawa darah dan merupakan organ pembentukan antibodi (Radji, 2015).

Hasil penimbangan bobot limpa relatif didapatkan hasil bahwa rata-rata pada kelompok kontrol, kelompok dosis 200 mg/kgBB, dosis 400 mg/kgBB dan dosis 600 mg/kgBB secara berturut-turut adalah 0,36%, 0,43%, 0,58% dan 0,77%. (Lampiran 9, Tabel 19). Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh variasi dosis terhadap bobot limpa relatif, hal ini juga berbanding lurus terhadap peningkatan limfosit pada pengukuran jenis total leukosit. Peningkatan tersebut disebabkan karena limpa dapat mengekstraksi sel darah merah tua dan rusak, menyingkirkan debris dan bahan asing dari darah yang masuk ke limpa (mikroba dalam darah dibersihkan dalam limpa). Limpa dapat memproduksi sel B dan sel T. Senyawa flavonoid dari ekstrak etanol daun piladang dapat meningkatkan proliferasi dan differensiasi sel B dan sel T sehingga menjadi limfosit yang dapat mengenal antigen (Baratawidjaja, 2018). Didalam sistem imun spesifik ini sel T Th2 membantu sel limfosit B berdiferensiasi menjadi sel plasma yang akan menghasilkan antibodi (Radji, 2015). Selain itu, sel T juga dapat berperan dalam pengenalan dan penghancuran sel yang terinfeksi virus. Antibodi merupakan komponen imunitas didapat yang melindungi tubuh terhadap infeksi mikroorganisme dan produk yang toksik (Baratawidjaja, 2018). Berdasarkan Uji statistik menggunakan ANOVA satu arah terlihat bahwa pemberian ekstrak etanol daun piladang pada mencit putih jantan selama 6 hari tidak mempengaruhi bobot limpa relatif secara signifikan ( $P>0,05$ ) (Lampiran 9, Tabel 20). Artinya bobot

limpa relatif kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan bobot limpa relatif pada kelompok uji.



**Gambar 5.** Diagram Bobot Limpa Relatif Pada Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

Berdasarkan penelitian ini didapatkan hasil bahwa variasi dosis dapat memberikan peningkatan pada parameter sel-sel sistem imunitas nonspesifik yaitu indeks fagositosis, jumlah total sel leukosit dan jumlah jenis sel leukosit serta parameter sistem imun spesifik yaitu bobot limpa relatif. Dimana antara sistem imun nonspesifik dan spesifik memiliki aktivitas yang saling berinteraksi atau berhubungan satu sama lain seperti makrofag dan neutrofil berikatan dengan dinding pembuluh darah, keluar dari pembuluh darah dan bergerak ke tempat infeksi untuk memakan mikroba penyebab infeksi. Selama proses ini juga terjadi rangsangan untuk meningkatkan mobilitas fagosit dan mediator larut CRP, MBL dan komplemen melalui arus darah ke tempat infeksi. SD memakan dan memproses komponen mikroba, bermigrasi melalui saluran limfe ke kelenjar limfoid yang dekat dan mempersentasikan antigen ke sel T. Sel T yang diaktifkan

bermigrasi ke tempat infeksi dan memberikan bantuan ke sel NK dan makrofag. Sitokin yang diproduksi selama respons nonspesifik mendukung dan mengarahkan respons imun spesifik ke tempat infeksi. LPS (produk mikroba), IFN (produk sel NK dan sel T) memacu transkripsi gen APC untuk memproduksi IL-12 yang memacu diferensiasi sel CD4<sup>+</sup> menjadi sel efektor Th1 yang memproduksi IFN- $\gamma$  yang akhir meningkatkan fagositosis makrofag untuk membunuh mikroba dan merangsang sel B untuk memproduksi IgG yang bekerja sebagai opsonin dalam fagositosis. (Baratawidjaja, 2018).

Sistem imun non spesifik dan spesifik perlu bekerja sama dalam interaksi dan sistem koperasi yang sangat tinggi yang menghasilkan respons kombinasi yang lebih efektif. Sistem imun nonspesifik bekerja dengan cepat dan sering diperlukan untuk merangsang sistem imun spesifik. (Baratawidjaja, 2018).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan beberapa parameter uji dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) mempunyai kemampuan aktivitas imunomodulasi yaitu imunostimulan.

## **BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang aktivitas imunomodulasi ekstrak etanol daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) pada mencit putih jantan dengan metode *Carbon Clearance* dapat disimpulkan bahwa :

1. Ektrak daun piladang memiliki efek imunomodulator dengan indeks fagositosis besar dari 1 (IF>1) serta meningkatkan jumlah total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit dan bobot limpa relatif.
2. Variasi dosis ekstrak daun piladang yang diberikan terhadap mencit putih jantan mempengaruhi aktivitas imunomodulasi dan dosis yang paling efektif adalah dosis 600 mg/kgBB.

### **5.2 Saran**

Disarankan pada peneliti selanjutnya agar dapat melakukan uji aktivitas imunomodulasi terhadap fraksi-fraksi dari ekstrak daun piladang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, Abdul K., Andrew H. Lichtmandan Shiv Pillai 2016. *Imunologi Dasar Abas : Fungsi dan Kelainan Sistem Immun*. Edisi V. Singapore: Elsevier.
- Aldi, Y., Yahdian R., Dian H. 2014. Aktivitas Imunomodulator dari Ekstrak Etanol Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) terhadap Ayam Broiler. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*.
- Aldi, Y., Ones N. D, dan Rahimatul Uthia. 2016. Uji Imunomodulator dan Jumlah Sel Leukosit Dari Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.). *Scientia*.
- Alfitasari, D.A., Anjar,M. K. dan Zainur R. H. 2017. Aktifitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Terhadap Repon Immun Non Spesifik Pada Mencit Jantan Galur Balb/C dengan Metode Carbon Clearance.*Biosfera*.
- Andani, M. 2017. Formulasi Tablet Ekstrak Daun Iler (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br.) Dengan Variasi Gelatin Sebagai Pengikat. *KTI*. Palembang: Politeknik Kesehatan Palembang.
- Aria, M., Verawati, Afdhil, A. dan Monika. 2015. Uji Efek Antiinflamasi Fraksi Daun Piladang (*Solenostemon scutellaroides* (L.) (Codd.) Terhadap Mencit Putih Betina. *Jurnal Scientia*.
- Baratawidjaja, K. G. dan Iris R. 2018. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Dalimartha, S. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Depkes RI. 1989. *Materia Medika Indonesia*, Jilid V, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Depkes RI, Jakarta.
- Departemen kes, RI. 1995. *Farmakope Indonesia Jilid IV*. Dirjen POM : Jakarta.
- Doerge, H. 1982. *Buku Teks Wilson dan Gisvold Kimia Farmasi Medisinal Organik* (VII). Philadelphia: JB. Lippocott Company.
- Djamal, R. 2010. *Kimia Bahan Alam : Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*. Padang : Universitas Baiturrahmah.

- Eriani, K., Ainsyah, Rosnizar, Ichsan. 2018. Uji Efek Immunostimulan Ekstrak Metanol Daun Flamboyan (*Delonix regia* (Boj. ex Hook.) Raf.) Terhadap Peningkatan Sel-Sel Imun Pada Mencit Strain Swiss-Webster. *Jurnal Natural*.
- Gandasoebrata R. 2013. *Penuntun Laboratorium Klinis*. Jakarta. Dian Rakyat
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta
- Harborne, J. 1987. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Harmita. 2009. *Analisa Fisikokimia kromatografi*. Volume 2. Jakarta: EGC
- Haslam, E. (1996). Natural Polyphenols (Vegetable Tannins), as Drugs: Possible modes of Action. *Journal. Prod*: 59. 205-215.
- Hidayat, R. S. dan R. M. N. 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Jakarta: AgriFlo (Penebar Swadaya Grup).
- Jiao Y., Wen J., Yux. (1999) *Influence of flavanoid of astragalus membranaceus' stem and leaves on the function of cell mediated immunity in mice*. Heilongjiang University
- Maharani, Annisa. 2015. Ekstrak Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd.) Terhadap Mencit Putih Jantan. *Skripsi*. Padang: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
- Marpaung, P. N. S., Adeanne C. W. dan Paulina V. Y. Y. 2014. Uji Efektivitas Sediaan Salep Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* L. benth.) Untuk Pengobatan Luka Yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Pharmakon*, 3(3), 2493.
- Marzouk, M. M. 2016. Flavonoid Constituents and Cytotoxic Activity of *Erucaria Hispanica* (L.) Druce Growing Wild In Egypt. *Arabian Journal of Chemistry*.
- Morikawa K., Mitsuko N., Misa N., Ikuko T., Kiichiro K., Takafumi Y., Shigeru M. 2003. Inhibitory Effect of Quercetin On Carrageenan Induced Inflammation In Rats. *Life Sciences*.
- Muljono, P., Fatmawati, dan Aaltje E. M. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mayana Jantan (*Coleus atropurpureus* Benth) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Sp.* dan *Pseudomonas Sp.* *Jurnal E-Biomedik*. Edisi Januari-Juni 2016. 4 (1) : 164-172.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat* (V). ITB. Bandung

- Pakadang, S. R., Chatarina U.W., Hari B.N., Dwi W., Ressay D., Yadi, Muhammad S., Mochammad. H. 2015. Immunomodulator Potential of Miana Leaves (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) in Prevention of Tuberculosis Infection. *American Journal of Microbiological Research*. 3 (4) : 129-134.
- Pourmorad, F., SJ Hosseinimehr., N. Shahabimajd. 2006. Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(11) : 1142–1145.
- Radji, M. 2015. *Imunologi & Virologi*. Edisi revisi. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan.
- Rowe RC, Sheskey PJ, Q. M. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6th ed. USA: Pharmaceutical Express.
- Ridwan, Y., Latifah K. D., Fadjar S., dan Ekowati H. 2006. Kandungan Kimia Berbagai Ekstrak Daun Miana (*Coleus Blumei* Benth.) dan Efek Anthelmintiknya Terhadap Cacing Pita Pada Ayam. *Jurnal Pertanian Indonesia*. 11(2) : 1-6.
- Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E., & Makang, V.A. 2008. *Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara*.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Bandung: ITB.
- Suhono, B. 2010. *Ensiklopedia Flora*, Edisi I. Jakarta: PT Kharisma Ilmu.
- Sukmawati, Harta W., Miftahuljanna. 2019. Analisis Kadar Kuersetin pada Ekstrak Etanol Daun Miana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br) secara HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). *As-Syifaa Jurnal Farmasi*.
- Suryani, B. 2017. Uji Efek Immunomodulator Ekstrak Daging Buah Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). Dengan Metoda *Carbon Clearance* Dan Jumlah Sel Leukosit. *Skripsi*. Padang: Sekolah Tinggi Ilmu Fasmasi Yayasan Perintis.
- Verawati, Dedi Noviandi dan Rahmawati. 2019. Profil Kandungan Kimia dan Nilai Toksisitas LC50 Fraksi Non Polar Daun *Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd, STIFI. Padang: *Jurnal Scientia*. 9(1) ; 7-12.
- Verawati, Mimi A., Afdhil A., dan Efi R. 2016. Antioxidant Activity and Total Flavonoid Content of Fractions of Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) leaf extract. *Der Pharmacia Lettre*, 8 (18) : 67-71.
- Vinavora, L., Z. Vinarov, V. Anatasov, I. Pantcheva, S.Tcholakova, ND. Denkova, & S. Stoyanov. 2015. Lowering of Cholesterol Bioaccessibility and Serum Concentrations by Saponins: In Vitro And In Vivo Studies. *The*

*Royal Society of Chemistry.*

Wakhidah, Anisatu Z., Marina S. 2018. Etnofarmakologi Tumbuhan Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth.). *Jurnal Pro-Life*. 5 (2) : 567-578.

Yanti, G. R. 2018. Uji Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) dengan Metoda *Carbon Clearance* Terhadap Mencit Putih Jantan. *Skripsi*. Padang: Universitas Andalas. Padang.

Yuniarti, T. 2008. *Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional*. (Ed. I). Yogyakarta: MedPress.

Zilhadia, Wiraswati Y, C. 2012. Uji Efek Imunomodulator Katekin Gambir (*Uncaria gambier* Roxb.) Menggunakan Parameter Bersihan Karbon Secara Invitro. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 8(3) : 181-186.

## Lampiran 1. Identifikasi Daun Piladang



### HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar  
Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. \*811 e-mail: [nas\\_herb@yahoo.com](mailto:nas_herb@yahoo.com);  
[herbartumandaunand@gmail.com](mailto:herbartumandaunand@gmail.com)

Nomor : 453/K-ID/ANDA/XI/2019  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,  
Siti Nirmala  
Di  
Tempat

Dengan hormat,  
Sehubungan dengan surat mengenai bantuan untuk "Identifikasi Tumbuhan" di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, atas nama:

Nama : Siti Nirmala  
No. BP : 1604034  
Instansi : STIFI YP PADANG

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

No	Family	Spesies	Sinonim
1.	Lamiaceae	<i>Plectranthus scutellarioides</i> (L.) R.Br.	<i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.



Padang, 25 November 2019  
Kepala,

Dr. Nurainas  
NIP. 196908141995122001

**Gambar 6.** Hasil Identifikasi Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) di Herbarium ANDA Universitas Andalas.

## Lampiran 2. Ethical Clearance



**KOMITE ETIKA PENELITIAN**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ANDALAS**  
Jl. Perintis Kemerdekaan Padang 25127  
Telepon: 0751 31746 Fax : 0751 32838 No. Reg : 036/KNEP/2008  
e-mail: [fk2unand@pdg.vision.net.id](mailto:fk2unand@pdg.vision.net.id)

---

No: 188/KEP/FK/2020

**KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK**  
**ETHICAL CLEARANCE**

Tim Komite Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, dalam upaya melindungi hak azasi dan kesejahteraan subjek penelitian kedokteran/kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian dengan judul:  
*The Committee of the Research Ethics of the Faculty of Medicine, Andalas University, with regards of the protection of human rights and welfare in medical/health research, has carefully reviewed the research protocol entitled:*

**“Aktivitas Imunomodulasi Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellariodes* L. (Codd) pada Mencit Putih Jantan dengan Metode Carbon Clearance”**

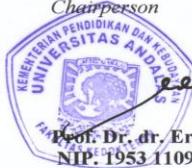
Nama Peneliti Utama : Siti Nirmala  
*Name of the Investigator*

Nama Institusi : STIFI Perintis Padang  
*Name of Institution*

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut diatas.  
*and recommended the above research protocol.*

Padang, 05 Maret 2020

Ketua  
*Chairperson*

**Prof. Dr. dr. Eryati Darwin, PA(K)**  
**NIP: 1953 1109 1982 112 001**

**Gambar 7.** Keterangan Lolos Kaji Etik di Komite Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas ANDALAS

### Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



**Gambar 8.** Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd)

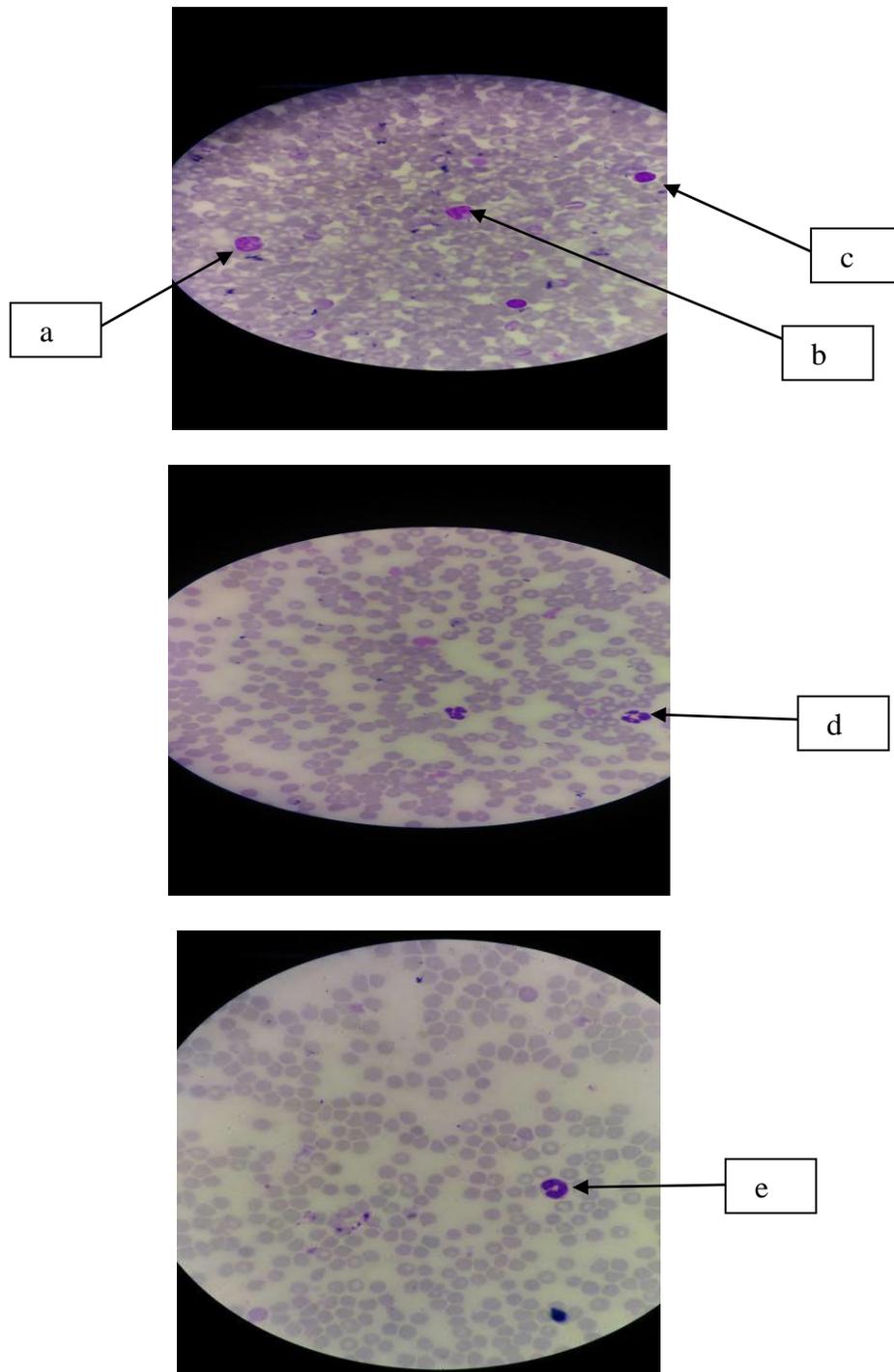


**Gambar 9.** Preparat Hapusan Darah



**Gambar 10.** Mikroskop

Lampiran 3. (Lanjutan)



**Gambar 11.** Bentuk jenis sel leukosit

a. Eosinofil  
b. Monosit

c. Limfosit  
d. Neutrofil batang

e. Neutrofil segmen

**Lampiran 3. (Lanjutan)**

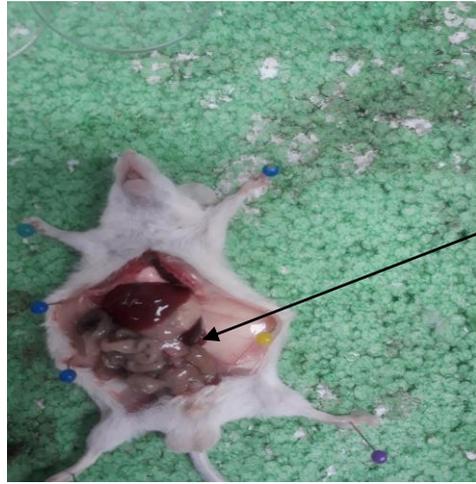


**Gambar 12. Haemacytometer**



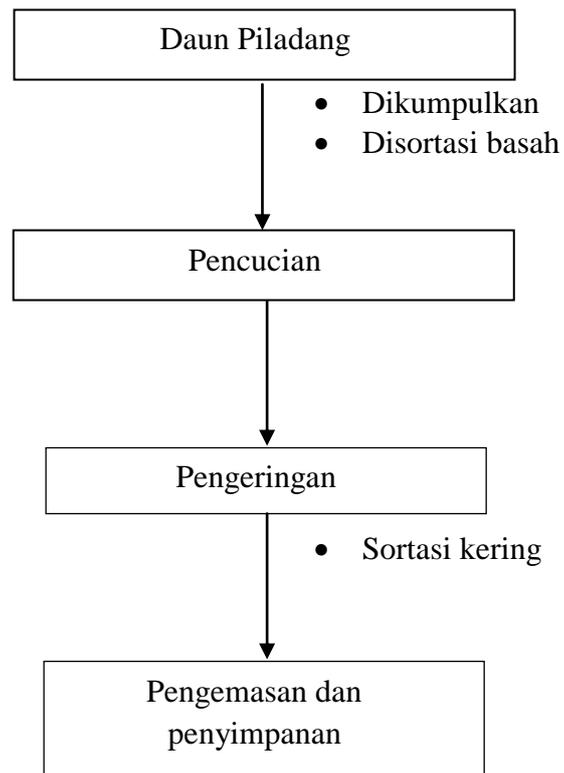
**Gambar 13. Spektrofotometer UV-Vis**

**Lampiran 3. (Lanjutan)**



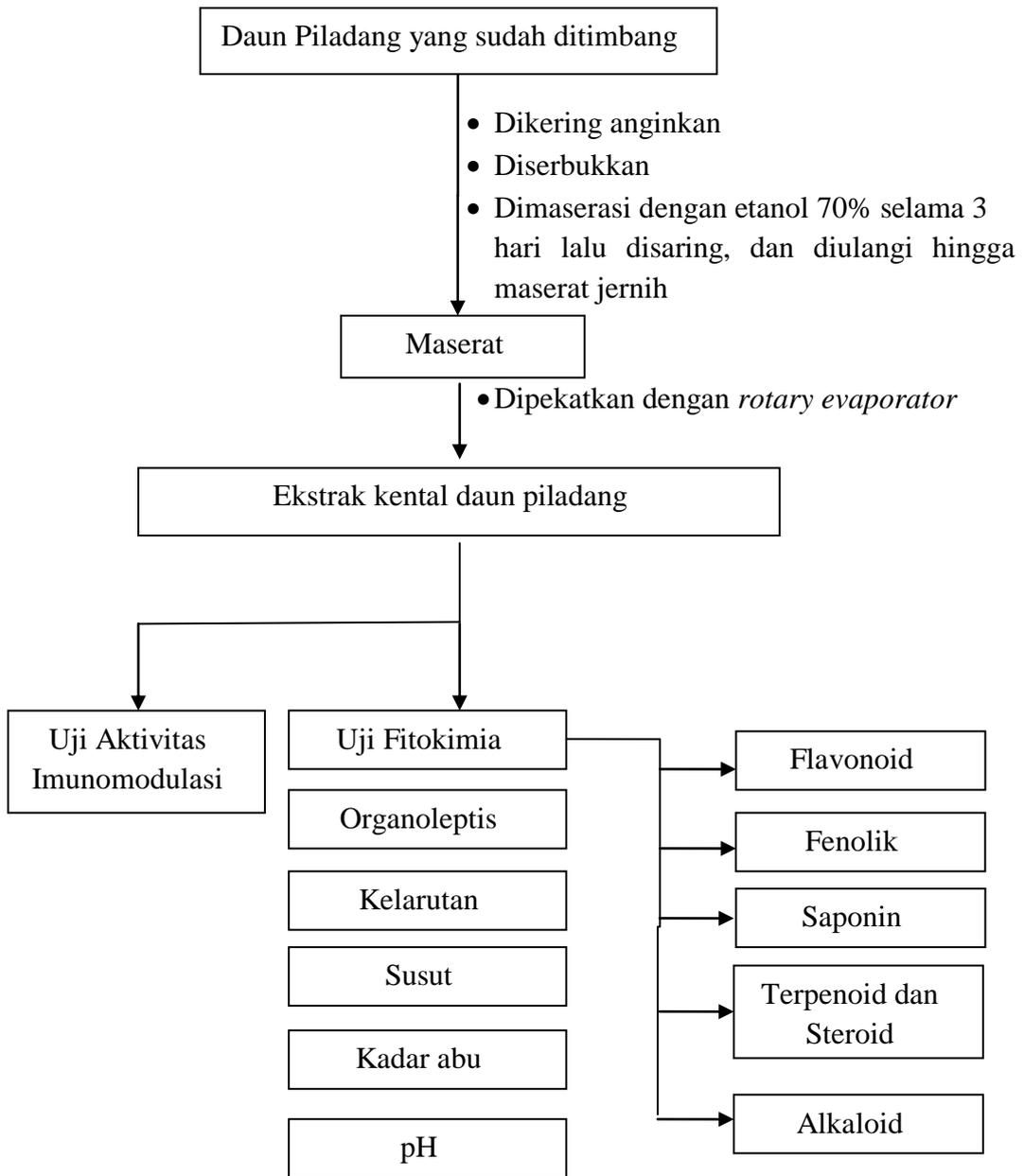
**Gambar 14.** Bentuk Limpa Hewan Percobaan

#### Lampiran 4. Skema Kerja



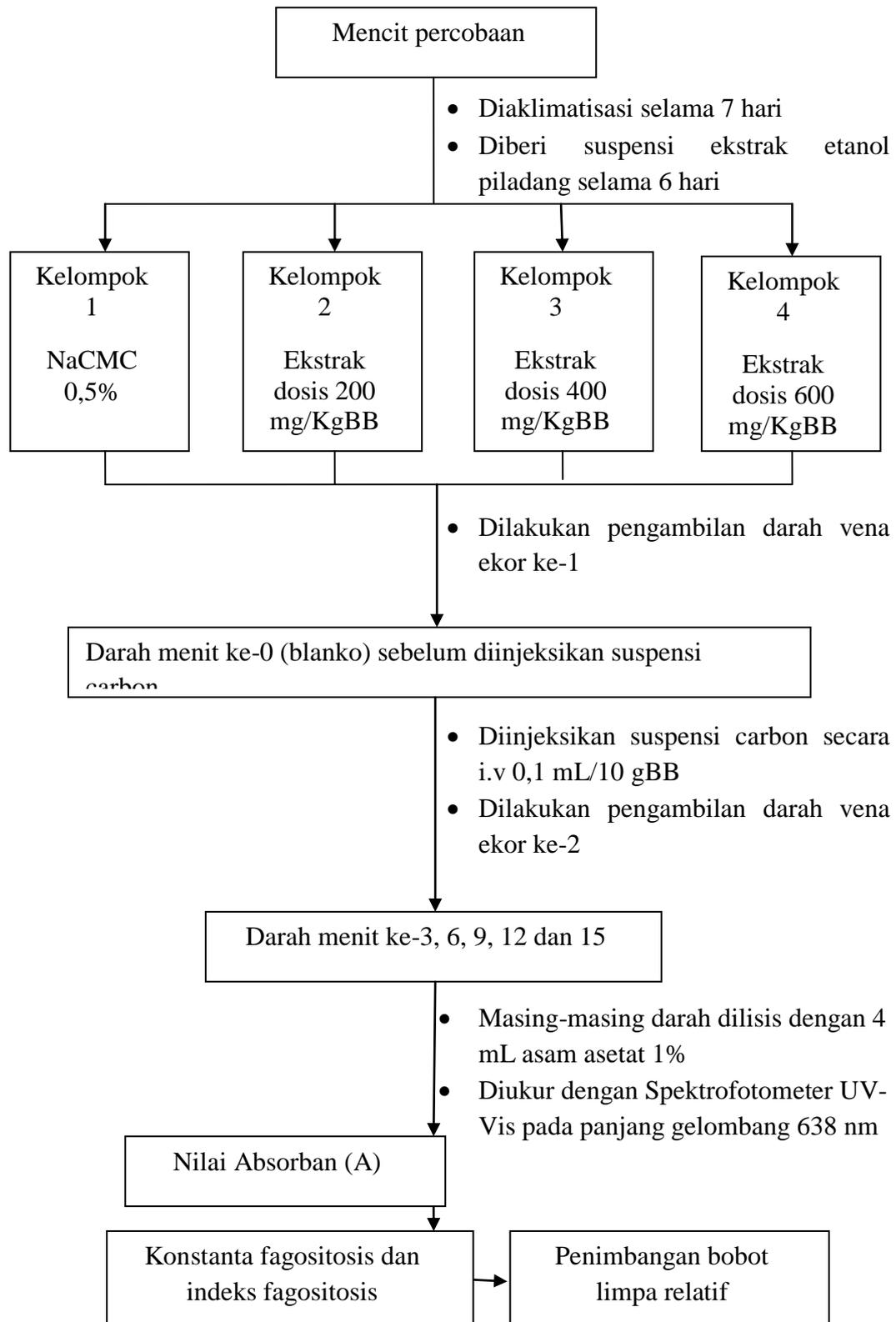
**Gambar 15.** Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd).

**Lampiran 4. (Lanjutan)**



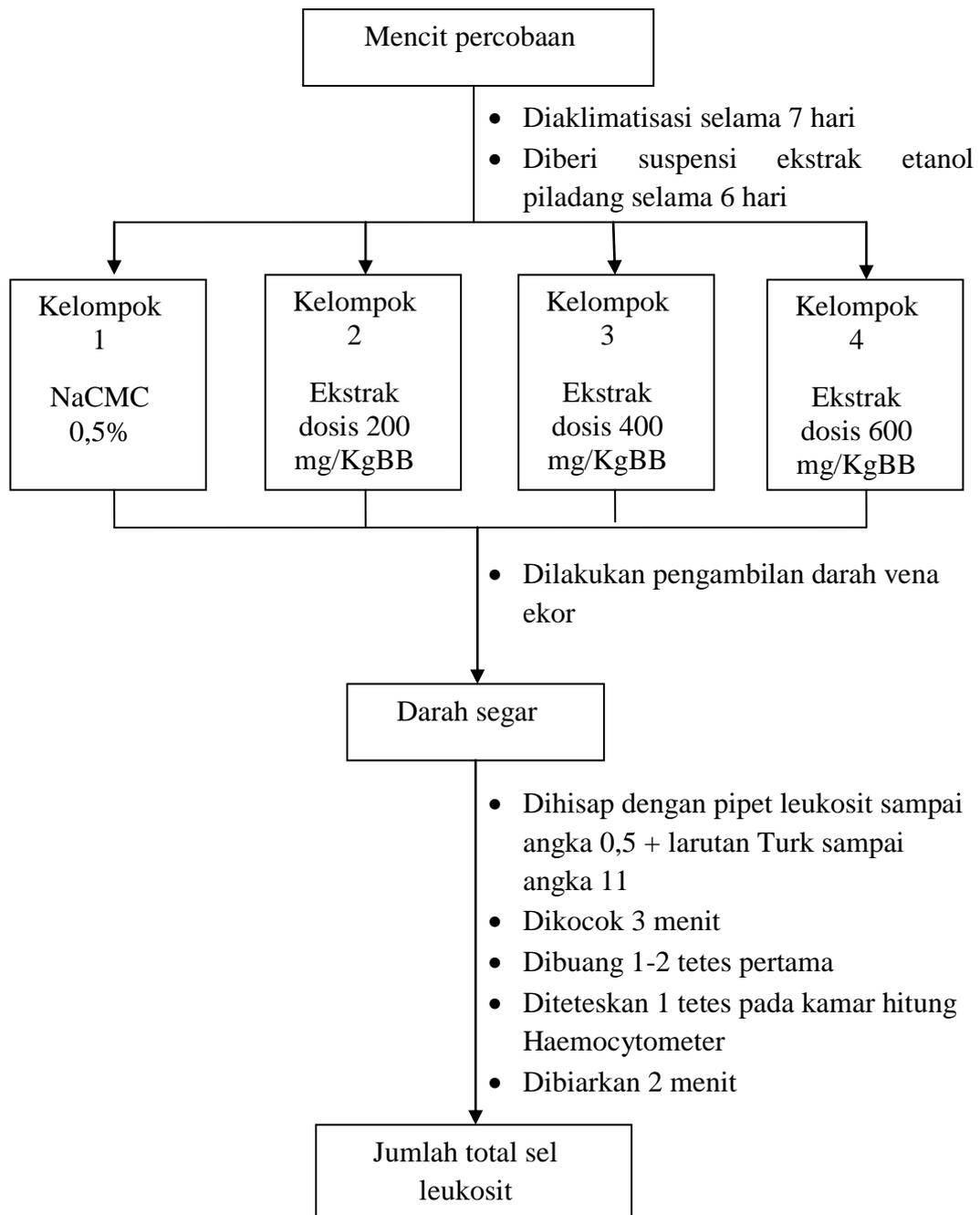
**Gambar 15.** Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellariodes* (L.) Codd). (Lanjutan).

Lampiran 4. (Lanjutan)



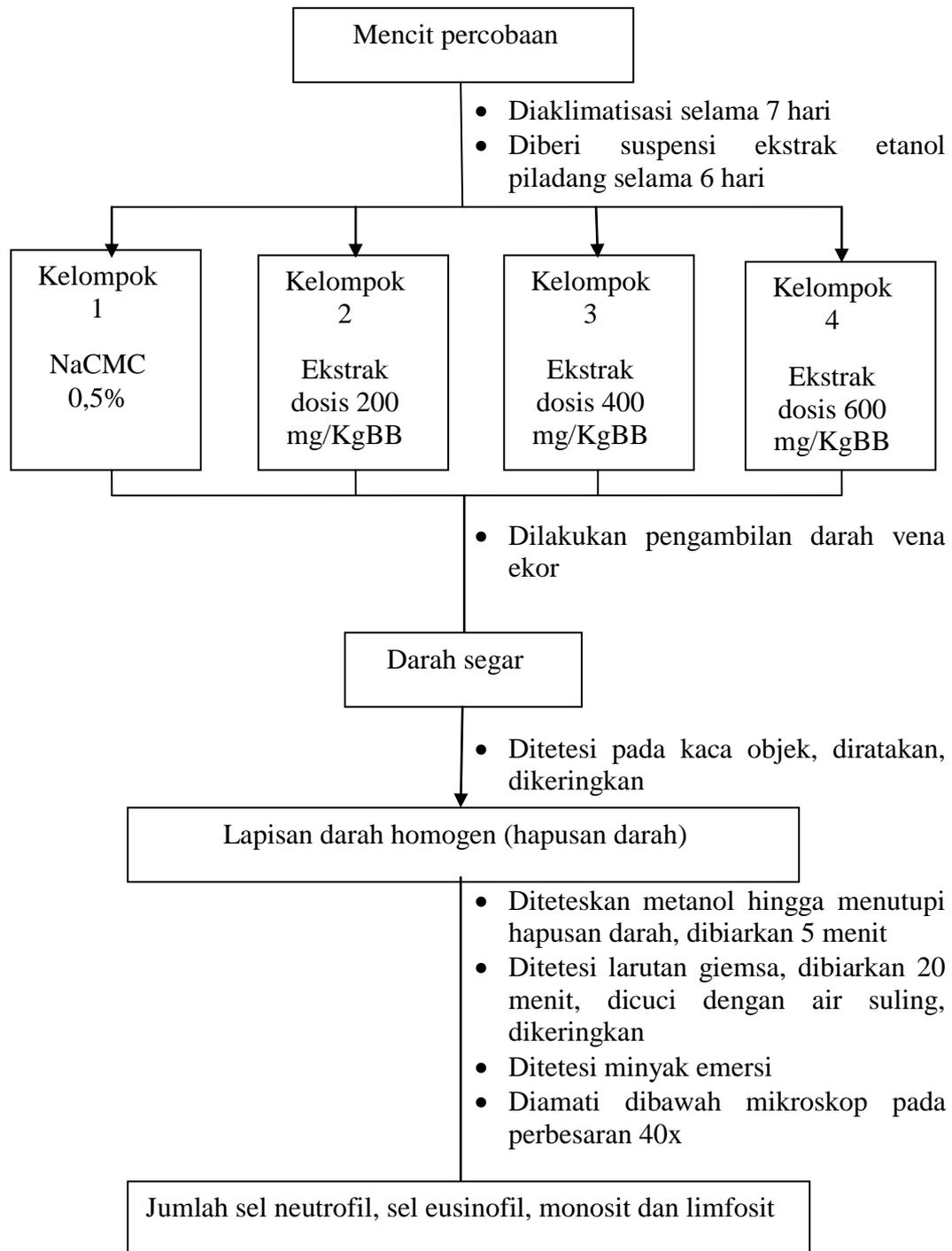
Gambar 16. Skema Kerja Uji Fagositosis Dengan Metode *Carbon Clearance*

**Lampiran 4. (lanjutan)**



**Gambar 17.** Skema Kerja Penentuan Jumlah Total Sel Leukosit Dengan Metode Haemacytometer Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

**Lampiran 4. (Lanjutan)**



**Gambar 18.** Skema Kerja Penentuan Komponen Jumlah Sel Leukosit Dengan Metode Hapusan Darah Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

**Lampiran 5. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon Scutellarioides* (L.) Codd)**

**Tabel 2.** Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon Scutellarioides* (L.) Codd)

Berat sampel segar	Berat ekstrak kental	Rendemen
10.000 gr	304,44 gr	3,04 %

Perhitungan rendemen :

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat sampel segar}} \times 100 \% \\ &= \frac{304,44 \text{ gr}}{10000 \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= 3,04\%\end{aligned}$$

Berat sampel kering	Berat ekstrak kental	Rendemen
1400 gr	304,44 gr	21,74 %

Perhitungan rendemen :

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat sampel kering}} \times 100 \% \\ &= \frac{304,44 \text{ gr}}{1400 \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= 21,74 \%\end{aligned}$$

### Lampiran 5. (Lanjutan)

**Tabel 3.** Hasil Pemeriksaan Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon Scutellarioides* (L.) Codd)

No	Pemeriksaan	Persyaratan	Pengamatan
1.	Organoleptis <ul style="list-style-type: none"><li>• Bentuk</li><li>• Warna</li><li>• Bau</li><li>• Rasa</li></ul>		Cairan kental Coklat kehitaman Khas aromatis Pahit
2.	Kelarutan <ul style="list-style-type: none"><li>• Dalam air</li><li>• Dalam alkohol 96%</li></ul>		Larut Mudah larut
3.	Ph		4,72
4.	Kadar abu	Tidak lebih dari 8% (Depkes, 1989)	5,68 %
5.	Susut pengeringan		10,06 %
6.	Identifikasi metabolit sekunder ekstrak daun piladang. <ul style="list-style-type: none"><li>• Flavonoid</li><li>• Fenolik</li><li>• Steroid/terpenoid</li><li>• Saponin</li><li>• Alkaloid</li></ul>		+ + +/- + +

### Lampiran 5. (Lanjutan)

**Tabel 4.** Hasil Pemeriksaan Susut Pengeringan Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon Scutellarioides* (L.) Codd)

Berat krus kosong (W <sub>0</sub> )	Krus + ekstrak sebelum di oven (W <sub>1</sub> )	Krus + ekstrak setelah di oven (W <sub>2</sub> )	% Susut pengeringan
57,4521 gr	58,5264 gr	58,4183 gr	10,06 %

Perhitungan susut pengeringan ekstrak :

$$\begin{aligned}\text{Susut pengeringan} &= \frac{(w_1 - w_0) - (w_2 - w_0)}{(w_1 - w_0)} \times 100\% \\ &= \frac{(58,5264 \text{ gr} - 57,4521 \text{ gr}) - (58,4183 \text{ gr} - 57,4521 \text{ gr})}{(58,5264 \text{ gr} - 57,4521 \text{ gr})} \times 100\% \\ &= \frac{1,0743 \text{ gr} - 0,9662 \text{ gr}}{1,0743 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= \frac{0,1081 \text{ gr}}{1,0743 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 10,06\%\end{aligned}$$

### Lampiran 5. (Lanjutan)

**Tabel 5.** Hasil Pemeriksaan Kadar Abu Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon Scutellarioides* (L.) Codd)

Berat krus kosong (W <sub>0</sub> )	Berat krus + ekstrak sebelum pemijaran (W <sub>1</sub> )	Berat krus + ekstrak setelah di furnace (W <sub>2</sub> )	% Kadar abu
40,5163 gr	42,5195 gr	40,6302 gr	5,68 %

Perhitungan kadar abu ekstrak :

$$\begin{aligned} \text{Kadar abu} &= \frac{(W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100\% \\ &= \frac{40,6302 \text{ gr} - 40,5163 \text{ gr}}{42,5195 \text{ gr} - 40,5163 \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,1139 \text{ gr}}{2,0032 \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= 5,68 \% \end{aligned}$$

**Lampiran 6. Hasil Uji Aktivitas Imunomodulasi Dengan Metode *Carbon Clearance***

**Tabel 6.** Hasil Pemeriksaan Kadar Karbon Tinta Cina Yang Digunakan Sebagai Karbon Koloid.

No.	Berat tinta cina (g)		Kadar karbon (%)
	Berat basah	Berat kering	
1	5,0206	1,3537	26,9629%
2	5,0360	1,0326	20,5043%
3	5,0052	1,3875	27,7211%
Rata-rata ± SD			25,0627% ± 3,9659

Perhitungan kadar karbon

Berat tinta cina basah = 5,0206

Berat tinta cina setelah dikeringkan = 1,3537

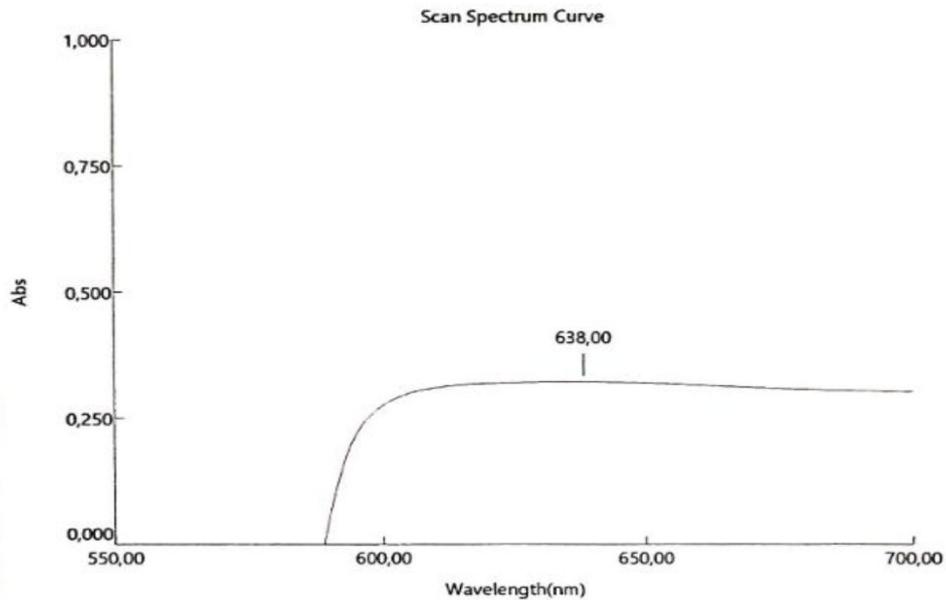
Rumus :

$$\text{Kadar} = \frac{\text{Tinta kering}}{\text{Tinta basah}} \times 100 \%$$

$$= \frac{1,3537}{5,0206} \times 100 \%$$

$$= 26,9629 \%$$

## Lampiran 6. (Lanjutan)



### ● Instrument Performance

Model : UV-VIS Spectrophotometer  
Number : 20-1950-21-0012  
Spectral Bandwidth : 2.00 nm

### ● Scan Spectrum Performance

Scan Range : 400.00 to 800.00 nm  
Measure Mode : Abs  
Interval : 1.00 nm  
Speed : Medium  
Data File : Untitled7.spd  
Create Date/Time : 05 Maret 2020 15:44:50  
Data Type : Original  
Method File:

### ● Analyse Note

Analyser : Administrator  
Sample Name :  
Comment :

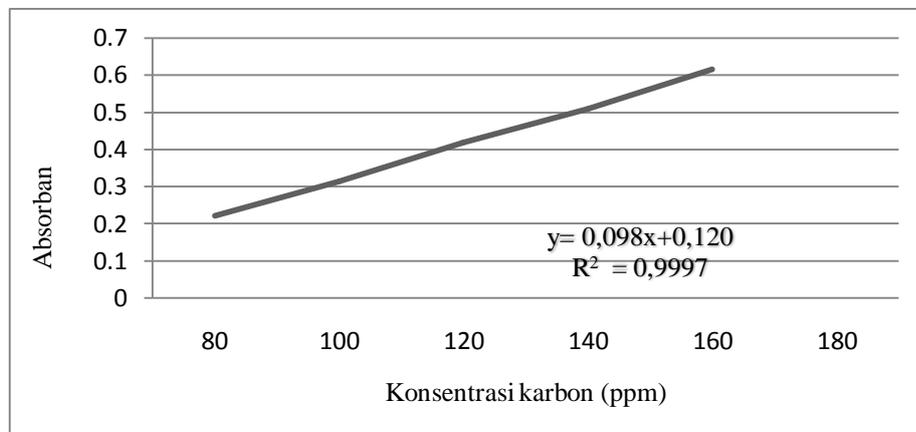
No.	P/V	Wavelength(nm)	Abs	Comment
1	Peak	638,00	0,326	
2	Peak	560,00	-0,291	
3	Peak	508,00	0,012	

Gambar 19. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Carbon

**Lampiran 6. (Lanjutan)**

**Tabel 7.** Nilai Absorban Dan Karbon Dalam Darah Mencit Putih Jantan Pada Panjang Gelombang 638 nm

No	Konsentrasi Karbon ( $\mu\text{g/mL}$ )	Nilai absorban
1	80	0.221
2	100	0.314
3	120	0.418
4	140	0.509
5	160	0.616



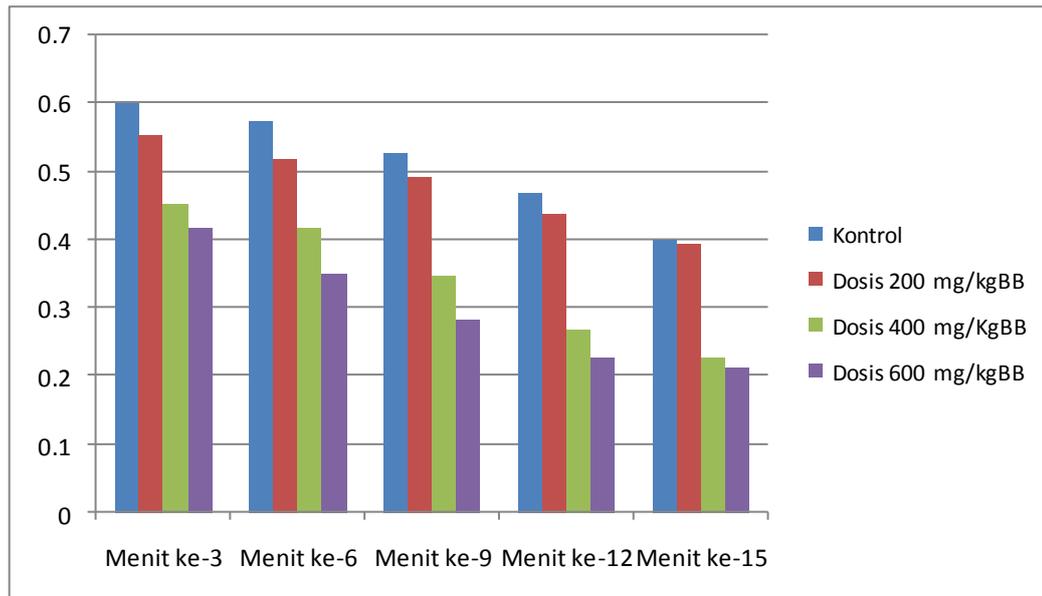
**Gambar 20.** Grafik Kurva Kalibrasi Karbon Dalam Darah Mencit Putih Jantan Pada Panjang Gelombang 638 nm.

**Lampiran 6. (Lanjutan)**

**Tabel 8.** Nilai Absorban Dari Darah Mencit Putih Jantan Yang Mengandung Karbon Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd).

Dosis	Waktu	Absorban					Rata-rata	±SD
		1	2	3	4	5		
Kelompok kontrol	3	0.555	0.612	0.608	0.592	0.640	0.601	0.031
	6	0.534	0.591	0.596	0.563	0.583	0.573	0.025
	9	0.512	0.543	0.558	0.500	0.526	0.527	0.023
	12	0.501	0.492	0.429	0.477	0.450	0.469	0.029
	15	0.438	0.448	0.378	0.392	0.344	0.400	0.043
Dosis 200 mg/Kg	3	0.639	0.591	0.608	0.615	0.215	0.553	0.178
	6	0.582	0.562	0.598	0.591	0.263	0.519	0.143
	9	0.527	0.500	0.560	0.543	0.326	0.491	0.094
	12	0.452	0.478	0.429	0.495	0.334	0.437	0.063
	15	0.343	0.394	0.379	0.447	0.398	0.392	0.037
Dosis 400 mg/Kg	3	0.381	0.578	0.474	0.458	0.359	0.450	0.086
	6	0.357	0.413	0.494	0.461	0.356	0.416	0.061
	9	0.378	0.327	0.310	0.368	0.353	0.347	0.028
	12	0.188	0.324	0.267	0.271	0.286	0.267	0.049
	15	0.176	0.273	0.257	0.216	0.208	0.226	0.039
Dosis 600 mg/Kg	3	0.489	0.366	0.426	0.392	0.402	0.415	0.046
	6	0.374	0.355	0.399	0.256	0.367	0.350	0.055
	9	0.268	0.299	0.353	0.201	0.292	0.282	0.055
	12	0.266	0.267	0.155	0.199	0.254	0.228	0.049
	15	0.181	0.208	0.242	0.202	0.236	0.213	0.025

**Lampiran 6 (lanjutan)**



**Gambar 21.** Diagram Absorban Suspensi Karbon Terhadap Waktu Pada Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

**Lampiran 6. (Lanjutan)**

**Tabel 9.** Harga Konstanta Fagositosis Dari Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

Konstanta fagositosis				
Waktu (menit)	Kontrol	Dosis 200 mg/kgBB	Dosis 400 mg/kgBB	Dosis 600 mg/kgBB
3	0.073	0.085	0.115	0.127
6	0.040	0.047	0.063	0.075
9	0.030	0.034	0.051	0.061
12	0.027	0.029	0.047	0.053
15	0.026	0.027	0,043	0.044
Rata-rata	0.039	0.044	0.063	0.072
±SD	0.0196	0.0239	0.0295	0.0327

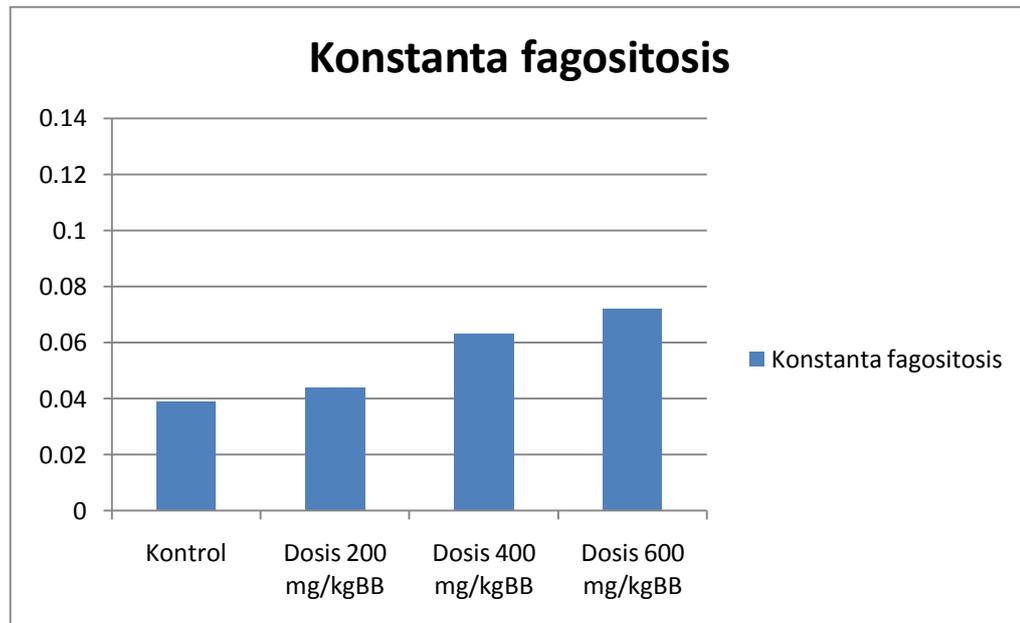
Contoh Perhitungan Konstanta Fagositosis adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 K &= \frac{\text{Log } A(n) - \text{Log } A(n-1)}{t(n-1) - t(n)} \\
 &= \frac{\text{Log } 0,601(1) - \text{Log } 0,601(1-1)}{3(1-1) - 3(1)} \\
 &= \frac{-0,221 - 0}{0 - 3} \\
 &= \frac{-0,221}{-3} \\
 &= 0,073
 \end{aligned}$$

Keterangan :

- K = Konstanta fagositosis
- A(n) = Absorban pada waktu ke- n
- A(n-1) = Absorban pada waktu ke- n-1
- t = Waktu (3, 6, 9, 12, 15).
- n = Pengamatan ke (n = 1, 2, 3, 4, 5)

**Lampiran 6. (Lanjutan)**



**Gambar 22.** Diagram Konstanta Fagositosis Dari Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

## Lampiran 6. (Lanjutan)

**Tabel 10.** Nilai Indeks Fagositosis Dari Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

Indeks Fagositosis				
Waktu(menit)	Kontrol	Dosis 200 mg/kgBB	Dosis 400 mg/kgBB	Dosis 600 mg/kgBB
3	1.00	1.16	1.57	1.73
6	1.00	1.17	1.57	1.87
9	1.00	1.13	1.70	2.03
12	1.00	1.07	1.74	1.96
15	1.00	1.03	1.65	1.69
Rata-rata	1.00	1.11	1.64	1.85
±SD	0.00000	0.09230	0.07635	0.14553

Contoh perhitungan harga indeks fagositosis adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned}\text{Indeks fagositosis} &= \frac{\text{Konstanta fagositosis mencit x menit ke (t)}}{\text{konstanta fagositosis kontrol menit ke (t)}} \\ &= \frac{0,085}{0,073} \\ &= 1,16\end{aligned}$$

Keterangan :

IF = Index Fagositosis Mencit

X = Mencit yang sudah diperlakukan dan ditentukan harga konstanta fagositosisnya

t = waktu (menit ke-3,6,9,12 dan 15)

**Lampiran 6. (Lanjutan)**

**Tabel 11.** Uji Anova Dua Arah Dan Uji Lanjutan Duncan Indeks Fagositosis Dari Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: Indeks fagositosis					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2,599 <sup>a</sup>	7	0,371	55,349	0,000
Intercept	39,396	1	39,396	5873,462	0,000
Waktu	0,042	4	0,011	1,567	0,246
Kelompok	2,557	3	0,852	127,059	0,000
Error	0,080	12	0,007		
Total	42,076	20			
Corrected Total	2,679	19			

a. R Squared = ,970 (Adjusted R Squared = ,952)

Indeks fagositosis				
Duncan <sup>a,b</sup>				
Kelompok hewan uji	N	Subset		
		1	2	3
kontrol	5	1,0000		
Dosis 200 mg/kgBB	5	1,1120		
Dosis 400 mg/kgBB	5		1,6460	
Dosis 600 mg/kgBB	5			1,8560
Sig.		0,052	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
Based on observed means.  
The error term is Mean Square(Error) = ,007.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.  
b. Alpha = 0,05.

**Lampiran 7. Hasil perhitungan jumlah total sel leukosit**

**Tabel 12.** Jumlah Total Leukosit Pada Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 Hari Dengan Hemocytometer.

No	Total leukosit			
	Kontrol (μL)	Dosis 200 mg/kgBB (μL)	Dosis 400 mg/kgBB (μL)	Dosis 600 mg/kgBB (μL)
1	6.250	6.450	6.600	8.250
2	6.200	5.850	5.400	10.900
3	5.300	5000	7.400	11.500
4	5.200	7.750	6.700	11.500
5	6.500	6.650	6.350	11.350
Rata – rata	5.890	6.340	6.490	10.700

**Tabel 13.** Deskriptif, ANOVA Satu Arah Dan Uji Lanjutan Duncan Jumlah Total Leukosit Pada Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari

Descriptives								
Jumlah total sel leukosit								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	5	5890,00	596,238	266,646	5149,67	6630,33	5200	6500
Dosis 200 mg/kgBB	5	6340,00	1016,366	454,533	5078,01	7601,99	5000	7750
Dosis 400 mg/kgBB	5	6490,00	723,187	323,419	5592,04	7387,96	5400	7400
Dosis 600 mg/kgBB	5	10700,00	1391,492	622,294	8972,23	12427,77	8250	11500
Total	20	7355,00	2188,000	489,252	6330,98	8379,02	5000	11500

### Lampiran 7. (Lanjutan)

ANOVA					
Total sel leukosit					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	75568500,000	3	25189500,000	26,186	0,000
Within Groups	15391000,000	16	961937,500		
Total	90959500,000	19			

Total sel leukosit			
Duncan <sup>a</sup>			
Kelompok hewan uji	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kontrol	5	5890,00	
Dosis 200 mg/kgBB	5	6340,00	
Dosis 400 mg/kgBB	5	6490,00	
Dosis 600 mg/kgBB	5		10700,00
Sig.		0,373	1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.			

### Lampiran 8. Hasil Perhitungan Jumlah Jenis Sel Leukosit

**Tabel 14.** Jumlah Jenis Sel Leukosit Pada Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

Dosis ekstrak (mg/kgBB)	No	Jumlah jenis sel leukosit				
		Eosinofil	Neutrofil batang	Neutrofil segmen	Limfosit	Monosit
NaCMC 0,5%	1	1	4	50	13	8
	2	2	4	49	40	7
	3	2	5	53	32	7
	4	1	2	47	32	5
	5	0	2	48	22	4
	X±	1,2	3,4	49,4	27,8	6,2
	SD	0.837	1.342	2.302	10.450	1.643
Dosis 200 mg/kg BB	1	2	4	56	40	8
	2	2	6	69	25	9
	3	1	3	39	22	12
	4	3	3	42	31	8
	5	1	3	48	32	7
	X±	1,8	3,8	50,8	30	8,8
	SD	0.837	1.304	12.071	6.964	1.924
Dosis 400 mg/kg BB	1	3	6	72	25	7
	2	2	5	46	47	10
	3	4	5	60	48	8
	4	1	4	50	29	8
	5	2	6	72	35	14
	X±	2,4	5,2	60	36,8	9,4
	SD	1.140	0.837	12.083	10.402	2.793
Dosis 600 mg/kg BB	1	3	7	70	43	9
	2	3	10	69	41	9
	3	2	6	71	41	13
	4	3	4	68	49	11
	5	3	5	72	40	10
	X±	2,8	6,4	70	42,8	10,4
	SD	0.447	2.302	1.581	3.633	1.673

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**Tabel 15.** Deskriptif, ANOVA Satu Arah Dan Uji Lanjutan Duncan Eosinofil Pada Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

Descriptives								
Jumlah eosinofil								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	5	1.20	0.837	0.374	0.16	2.24	0	2
2	5	1.80	0.837	0.374	0.76	2.84	1	3
3	5	2.40	1.140	0.510	0.98	3.82	1	4
4	5	2.80	0.447	0.200	2.24	3.36	2	3
Total	20	2.05	0.999	0.223	1.58	2.52	0	4

ANOVA					
Jumlah eosinofil					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.350	3	2.450	3.379	0.044
Within Groups	11.600	16	0.725		
Total	18.950	19			

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

<b>Jumlah eosinofil</b>			
Duncan			
		Subset for alpha = 0.05	
Kelompok hewan percobaan	N	1	2
Kontrol	5	1.20	
Dosis 200 mg/kgBB	5	1.80	1.80
Dosis 400 mg/kgBB	5		2.40
Dosis 600 mg/kgBB	5		2.80
Sig.		0.282	0.096
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**Tabel 16.** Deskriptif, ANOVA Satu Arah Dan Uji Lanjutan Duncan Neutrofil Batang Pada Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

Descriptives								
Jumlah Neutrofil Batang								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	5	3.40	1.342	0.600	1.73	5.07	2	5
Dosis 200 mg	5	3.80	1.304	0.583	2.18	5.42	3	6
Dosis 400 mg	5	5.20	0.837	0.374	4.16	6.24	4	6
Dosis 600 mg	5	6.40	2.302	1.030	3.54	9.26	4	10
Total	20	4.70	1.867	0.417	3.83	5.57	2	10

ANOVA					
Jumlah Neutrofil Batang					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	28.200	3	9.400	3.958	0.027
Within Groups	38.000	16	2.375		
Total	66.200	19			

### Lampiran 8. (Lanjutan)

<b>Jumlah netrofil batang</b>			
Duncan			
Kelompok hewan percobaan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol	5	3.40	
Dosis 200 mg/kgBB	5	3.80	
Dosis 400 mg/kgBB	5	5.20	5.20
Dosis 600 mg/kgBB	5		6.40
Sig.		0.098	0.236
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**Tabel 17.** Deskriptif, ANOVA Satu Arah Dan Uji Lanjutan Duncan Neutrofil Segmen Pada Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

Descriptives								
Jumlah neutrofil segmen								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	5	49.40	2.302	1.030	46.54	52.26	47	53
Dosis 200 mg	5	50.80	12.071	5.398	35.81	65.79	39	69
Dosis 400 mg	5	60.00	12.083	5.404	45.00	75.00	46	72
Dosis 600 mg	5	70.00	1.581	0.707	68.04	71.96	68	72
Total	20	57.55	11.614	2.597	52.11	62.99	39	72

ANOVA					
Jumlah neutrofil segmen					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1364.950	3	454.983	6.077	0.006
Within Groups	1198.000	16	74.875		
Total	2562.950	19			

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**Jumlah netrofil segmen**

Duncan

Kelompok hewan percobaan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol	5	49.40	
Dosis 200 mg/kgBB	5	50.80	
Dosis 400 mg/kgBB	5	60.00	60.00
Dosis 600 mg/kgBB	5		70.00
Sig.		0.084	0.086

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

**Tabel 18.** Deskriptif, ANOVA Satu Arah Dan Uji Lanjutan Duncan Limfosit Pada Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

Descriptives								
Jumlah limfosit								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	5	27.80	10.450	4.673	14.82	40.78	13	40
Dosis 200 mg/kgBB	5	30.00	6.964	3.114	21.35	38.65	22	40
Dosis 400 mg/kgBB	5	36.80	10.402	4.652	23.88	49.72	25	48
Dosis 600 mg/kgBB	5	42.80	3.633	1.625	38.29	47.31	40	49
Total	20	34.35	9.767	2.184	29.78	38.92	13	49

### Lampiran 8. (Lanjutan)

ANOVA					
Jumlah limfosit					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	696.150	3	232.050	3.326	0.046
Within Groups	1116.400	16	69.775		
Total	1812.550	19			

Jumlah limfosit			
Duncan			
		Subset for alpha = 0.05	
kelompok hewan percobaan	N	1	2
Kontrol	5	27.80	
Dosis 200 mg/kgBB	5	30.00	
Dosis 400 mg/kgBB	5	36.80	36.80
Dosis 600 mg/kgBB	5		42.80
Sig.		0.125	0.273
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**Tabel 19.** Deskriptif, ANOVA Satu Arah Dan Uji Lanjutan Duncan Monosit Pada Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

Descriptives								
Jumlah monosit								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	5	6.20	1.643	0.735	4.16	8.24	4	8
Dosis 200 mg/kgBB	5	8.80	1.924	0.860	6.41	11.19	7	12
Dosis 400 mg/kgBB	5	9.40	2.793	1.249	5.93	12.87	7	14
Dosis 600 mg/kgBB	5	10.40	1.673	0.748	8.32	12.48	9	13
Total	20	8.70	2.473	0.553	7.54	9.86	4	14

ANOVA					
Jumlah monosit					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	48.200	3	16.067	3.780	0.032
Within Groups	68.000	16	4.250		
Total	116.200	19			

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

<b>Jumlah monosit</b>			
Duncan			
kelompok hewan percobaan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol	5	6.20	
Dosis 200 mg/kgBB	5	8.80	8.80
Dosis 400 mg/kgBB	5		9.40
Dosis 600 mg/kgBB	5		10.40
Sig.		0.063	0.262
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			

**Lampiran 9. Hasil perhitungan bobot limpa relatif**

**Tabel 19.** Bobot Limpa Relatif Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

Dosis	Hewan	Bobot Badan (g)	Bobot Limfa	Bobot Limfa Relatif (%)
Kontrol negatif	1	25.58	0.10	0.39
	2	27.55	0.11	0.39
	3	28.18	0.10	0.35
	4	29.19	0.09	0.30
	5	29.23	0.11	0.37
	Rata-rata			0.36
	±SD			0.037
200 mg/kg BB	1	28.60	0.11	0.38
	2	28.15	0.08	0.28
	3	26.03	0.10	0.38
	4	24.14	0.07	0.28
	5	27.38	0.23	0.84
	Rata-rata			0.43
	±SD			0.233
400 mg/kg BB	1	30.95	0.37	1.19
	2	28.20	0.09	0.31
	3	30.71	0.25	0.81
	4	22.05	0.06	0.27
	5	19.59	0.07	0.35
	Rata-rata			0.58
	±SD			0.402
600 mg/kg BB	1	21.81	0.13	0.59
	2	28.26	0.29	1.02
	3	24.98	0.21	0.84
	4	27.47	0.27	0.98
	5	25.63	0.12	0.46
	Rata-rata			0.77
	±SD			0.244

**Lampiran 9. (Lanjutan)**

**Tabel 20.** Deskriptif Dan ANOVA Satu Arah Bobot Limpa Relatif Pada Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Selama 6 hari.

Descriptives								
Bobot limpa relatif								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	5	0.3600	0.03742	0.01673	0.3135	0.4065	0.30	0.39
Dosis 200 mg/kgBB	5	0.4320	0.23350	0.10442	0.1421	0.7219	0.28	0.84
Dosis 400 mg/kgBB	5	0.5860	0.40209	0.17982	0.0867	1.0853	0.27	1.19
Dosis 600 mg/kgBB	5	0.7780	0.24479	0.10947	0.4741	1.0819	0.46	1.02
Total	20	0.5390	0.29238	0.06538	0.4022	0.6758	0.27	1.19

ANOVA					
Bobot limpa relatif					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.514	3	0.171	2.470	0.099
Within Groups	1.110	16	0.069		
Total	1.624	19			