

**UJI EFEK IMUNOSTIMULAN EKSTRAK ETANOL
DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack) TERHADAP
AKTIVITAS DAN KAPASITAS FAGOSITOSIS SEL
MAKROFAG PERITONEUM PADA MENCIT**

SKRIPSI



Oleh :

THERESA REZEKI
NIM : 1704035

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2021**

PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Theresa Rezeki

NIM : 1704035

Judul Skripsi : Uji Efek Imunostimulan Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritoneum Pada Mencit.

Dengan ini menyatakan bahwa :

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

Padang, 7 September 2021

Theresa Rezeki

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Theresa Rezeki

NIM : 1704035

Judul Skripsi : Uji Efek Immunostimulan Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritoneum Pada Mencit.

Telah diuji dan disetujui skripsinya sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) melalui ujian sarjana yang diadakan tanggal 7 September 2021 berdasarkan ketentuan yang berlaku.

Ketua Sidang

apt. Revi Yenti, M. Farm

Pembimbing I

Anggota Penguji I

apt. Mimi Aria, M. Farm

Epi Supri Wardi, M.Si

Pembimbing II

Anggota Penguji II

Muthia Miranda Zaunit, S.Pd, M.Si

apt. Lola Azyenela, M.Farm

**Mengetahui :
Ketua Program Studi S1 Farmasi**

apt. Revi Yenti , M.Si

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah rabbil 'alamin,

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karuni-Nya yang sangat luar biasa dalam hidupku, sehingga pada titik terendah hidupku aku bisa meraih mimpi dan citaku untuk gelar Sarjana Farmasi. Atas izinmu ya Allah SWT aku mendapatkan kebahagiaan ini.

Sholawat serta salam kepada Nabiku, Nabi Muhammad SAW sebagai panutan umat muslim yang penuh dengan kemuliaan dan ketaatan kepada Allah SWT memberiku motivasi tentang kehidupan dan mengajari ku hidup melalui sunnah-sunnahnya.

Kupersembahkan karya sederhana ini kepada orang yang sangat kukasihi dan kusayangi.

Apa dan Ama...

Dengan hati yang tulus ku persembahkan karya ini sebagai pertanda bakti dan ungkapan terima kasih kepada kedua orangtuaku. Apa **alm. Eri Tanjung** dan Ama **Zeni Rosteti**, terima kasih atas cinta, kasih sayang, ridho dan do'a serta dukungan yang begitu besar yang telah diberikan kepadaku. Walaupun sebenarnya aku tau betapa sulitnya perjuangan apa dan ama demi kebahagiaanku. Aku sangat bersyukur dilahirkan dikeluarga kecil ini.

Adik ...

Dan untuk adikku tersayang, anak salihah, anak pintar **Riskyni Alyya**. Meskipun kita berdua sering gondok-gondok'an, iri dengki'an, tapi terima kasih atas semua do'a, cinta, kasih sayang, dukungan yang adik berikan. Semoga tali persaudaraan kita tetap terjalin untuk selamanya dan saling bergandengan tangan untuk menguatkan satu sama lain. Mari bersama wujudkan mimpi, memberikan senyuman dan kebahagiaan kepada kedua orang tua kita.

Keluarga Besar ...

Tak lupa untuk keluarga besarku, yang ikut andil dalam membimbing dan menasehati ku, terima kasih.

Dosen dan Staf Universitas Perintis Indonesia. . .

Teruntuk semua dosen dan staf Universitas Perintis Indonesia Padang, terimakasih untuk ilmu yang sangat berarti semoga berguna di masa depan. Teristimewa kepada ibu apt. Mimi Aria, M. Farm dan ibu Muthia Miranda Zaunit, S.Pd, M.Si yang telah membimbing dengan penuh kesabaran, yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran sehingga sampai di titik ini, serta ibu apt. Diza Sartika, M.Farm sebagai pembimbing akademik yang sudah membantu, membimbing serta menasehatiku selama ini.

Secret Creature ...

Terima kasih telah menjadi salah satu bagian dari hidupku.

Teman-teman...

Teruntuk teman, sahabat, adik, kakak dan abang terima kasih atas semua bantuannya dan bimbingannya. Teruntuk rekan satu tim dalam penelitian, terima kasih sudah berjuang bersama, menghadapi liku-liku penelitian, menyelesaikan skripsi dan bimbingan bersama. Dan untuk rekan-rekan seperjuangan Zeventien Gamananta'17 terimakasih atas kerja sama, memori dan solidaritas yang kita miliki. Sehingga selama perjalanan menempuh pendidikan SI ini menjadi lebih berarti. Beserta semua pihak yang tidak dapat ku tuliskan namanya satu persatu atas bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan skripsi ini terima kasih.

Dan Harapan ...

وَالسَّلَامُ عَلَيَّ يَوْمَ وُلِدْتُ وَيَوْمَ أَمُوتُ وَيَوْمَ أُبْعَثُ حَيًّا

“Dan kesejahteraan semoga dilimpahkan kepadaku, pada hari kelahiranku, pada hari wafatku, dan pada hari aku dibangkitkan hidup kembali.” (QS. Maryam : 33)

Dengan kepulangan **Apa** pada hari Rabu, 28 Juli 2021 sebelum seminar hasil dan ujian komprehensif banyak hal yang baru aku sadari, yang paling utama adalah bahwa tujuanku dilahirkan di dunia adalah untuk kebahagiaan di akhirat.

Tak ada rasa penyesalan, melaikan rasa syukur yang amat luar biasa karena telah dilahirkan dan dibesarkan oleh **Apa** dan **Ama**, dan memiliki **Adik**. Terima kasih untuk cinta dan kasih sayangnya.

Besar harapanku untuk bisa berkumpul kembali di akhirat kelak, di surgamu ya Allah SWT bersama kedua orang tuaku dan adikku. Semoga Allah SWT selalu menunjukkan jalan menuju jannahnya. Aamiin ya rabbal alamin.

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah rabbi 'alamin, sebagai ucapan puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini yang berjudul **“Uji Efek Imunostimulan Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritoneum Pada Mencit”**. Skripsi ini merupakan persyaratan untuk menyelesaikan program studi S1 Farmasi di Universitas Perintis Indonesia.

Selesainya skripsi ini tidak terlepas dari do'a, bantuan dan bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis dengan senang hati menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang tak terhingga kepada :

1. Bapak Yendrizal Jafri, S.Kp, M.Biomed, selaku Rektor Universitas Perintis Indonesia.
2. Ibu Dr. apt. Eka Fitrianda, M.Farm, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
3. Ibu apt. Revi Yenti, M.Si, selaku Ketua Prodi S1 Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
4. Ibu apt. Mimi Aria, M.Farm selaku pembimbing I dan ibu Muthia Miranda Zaunit, S.Pd, M.Si selaku pembimbing II, yang telah membimbing penulis dengan penuh perhatian dan kesabaran serta meluangkan waktu untuk memberikan petunjuk, arahan, motivasi dan nasehat dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.

5. Ibu apt. Diza Sartika, M.Farm selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan nasehat dalam kegiatan akademik yang diberikan selama ini.
6. Bapak/Ibu Dosen yang telah mendidik dan mencurahkan ilmu kepada penulis dan Staf Karyawan/Karyawati serta Analis Labor Program Studi S1 Farmasi Universitas Perintis Indonesia.

Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dengan pahala yang berlipat ganda serta senantiasa dilimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua, Aamiin. Penulis menyadari sepenuhnya skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan penulis demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat dan menjadi sumbangan yang bernilai bagi ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi kita semua khususnya dibidang kefarmasian.

Padang, 7 September 2021

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui efek pemberian dan pengaruh variasi dosis ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum dan persentasi bobot limfa relatif pada mencit. Penelitian dilakukan terhadap 5 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol mendapatkan Na CMC, kelompok pembanding mendapsatkan Stimuno Forte, kelompok 1, 2, 3 masing-masing mendapat ekstrak etanol daun sungkai dengan dosis 75mg/KgBB, 150mg/KgBB, 300mg/KgBB yang diberikan secara peroral selama 7 hari. Pada hari ke-8, total dan jumlah jenis sel leukosit dihitung dan kepada masing-masing mencit diinjeksikan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* secara intraperitoneal. Kemudian dihitung persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum dan persentasi bobot limfa relatif. Hasil analisa statistik uji ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan menunjukkan ekstrak etanol daun sungkai dapat mempengaruhi semua parameter uji secara signifikan ($p < 0,05$) dan didapatkan bahwa semakin besar dosis yang diberikan maka semakin meningkat aktivitas imunostimulan pada mencit. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sungkai berefek terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag, dimana didapatkan dosis 75mg/KgBB merupakan dosis paling efektif yang memiliki aktivitas imunostimulan.

Kata Kunci : *Peronema canescens* Jack, fagositosis, makrofag, imunostimulan

ABSTRACT

Research has been carried out to determine the effect of administration and the effect of varying doses of ethanol extract of Sungkai leaf (*Peronema canescens* Jack) on total leukocyte cells, the number of leukocyte cell types, the percentage of activity and phagocytic capacity of peritoneal macrophages and the percentage of relative spleen weight in mice. The study was conducted on 5 treatment groups. The control group received Na CMC, the comparison group received Stimuno Forte, groups 1, 2, 3 each received ethanol extract of sungkai leaf at a dose of 75mg/KgBW, 150mg/KgBW, 300mg/KgBW given orally for 7 days. On the 8th day, the total and number of leukocyte cell types were counted and each mouse was injected intraperitoneally with *Staphylococcus aureus* bacteria suspension. Then calculated the percentage of activity and phagocytic capacity of peritoneal macrophage cells and the percentage of relative spleen weight. The results of statistical analysis of the one-way ANOVA test and continued with Duncan's test showed that the ethanol extract of sungkai leaves could significantly affect all test parameters ($p < 0.05$) and it was found that the larger the dose, the higher the immunostimulant activity in mice. Thus, it can be concluded that the ethanolic extract of sungkai leaves has an effect on the activity and phagocytic capacity of macrophage cells, where a dose of 75mg/KgBW is the most effective dose which has immunostimulant activity.

Keywords : *Peronema canescens* Jack, phagocytosis, macrophages, immunostimulant

DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR SKEMA	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Biologi Tumbuhan Sungkai (<i>Peronema canescens</i> Jack)	5
2.1 1 Klasifikasi Tumbuhan.....	5
2.1 2 Morfologi Tumbuhan.....	5
2.1 3 Nama Daerah.....	6
2.1 4 Habitat dan Penyebaran	6
2.2 Tinjauan Farmakologi Tumbuhan Sungkai (<i>Peronema canescens</i> Jack).....	6
2.3 Tinjauan Kimia Tumbuhan Sungkai (<i>Peronema canescens</i> Jack)	7
2.4 Tinjauan Umum	8
2.4 1 Ekstraksi.....	8
2.4 2 Suspensi	8
2.5 Tinjauan Imunologi.....	9
2.5 1 Sistem Imunitas Tubuh	9
2.5 2 Antigen dan Immunogenitas	9

2.5 3	Imunomodulator	11
2.5 4	Sel Fagositosis	11
2.5 5	Fagositosis.....	14
2.5 6	Mekanisme Fagositosis	15
2.6	Tinjauan Stimulo Forte.....	16
2.7	Tinjauan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	17
2.8	Tinjauan Hewan Uji.....	18
2.9	Tinjauan Metode Penelitian.....	20
BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN.....		21
3.1	Waktu dan Tempat.....	21
3.2	Alat dan Bahan.....	21
3.2 1	Alat	21
3.2 2	Bahan	21
3.3	Metode Penelitian	21
3.3 1	Pengambilan Sampel.....	21
3.3 2	Identifikasi Sampel	22
3.3 3	Penyiapan Ekstrak Etanol Daun Sungkai	22
3.3 4	Evaluasi Ekstrak Etanol Daun Sungkai	22
3.4	Persiapan Uji Efek Immunostimulan	25
3.4 1	Persiapan Hewan Uji	25
3.4 2	Dosis yang Digunakan	26
3.4 3	Pembuatan Sediaan.....	26
3.4 4	Perlakuan Terhadap Hewan Percobaan	26
3.5	Uji Efek Immunostimlan	25
3.5 2	Penentuan Total Sel Leukosit dengan Haemacytometer	28
3.5 3	Penentuan Jumlah Jenis Sel Leukosit dengan Metode Hapusan Darah.....	28
3.5 4	Penentuan Persentasi Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritoneum	30
3.5 5	Penentuan Persentasi Bobot Limfa Relatif	30
3.6	Pengolahan Data	30
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....		31

4.1 Hasil.....	31
4.2 Pembahasan.....	33
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	47
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Gambar penelitian	51
2. Skema kerja penelitian	57
3. Evaluasi Ekstrak	63
4. Perhitungan dosis	67
5. Hasil penelitian	70

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil penetapan rendemen.....	63
2. Hasil pemeriksaan karakteristik.....	63
3. Hasil penetapan susut pengeringan.....	64
4. Hasil penetapan kadar abu.....	64
5. Hasil skrining fitokimia.....	65
6. Konversi perhitungan dosis.....	66
7. Hasil perhitungan total sel leukosit.....	70
8. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan total sel leukosit.....	72
9. Hasil perhitungan jumlah jenis sel leukosit.....	73
10. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan sel eusinofil.....	75
11. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan sel neutrofil batang.....	76
12. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan sel neutrofil segmen.....	77
13. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan sel limfosit.....	78
14. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan sel monosit.....	79
15. Hasil perhitungan persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum.....	80
16. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan persentasi aktivitas fagositosis sel makrofag peritoneum.....	82
17. Hasil perhitungan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum.....	83
18. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan persentasi kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum.....	85
19. Hasil perhitungan persentasi bobot limfa relatif.....	86
20. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan persentasi bobot limfa relatif.....	88

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Stimuno Forte	17
2. Pewarnaan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pada perbesaran 1000x.....	18
3. Surat hasil identifikasi tumbuhan sungkai.....	51
4. Surat keterangan lolos kaji etik.....	52
5. Surat hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	53
6. Daun tumbuhan sungkai	54
7. Simplisia daun sungkai.....	54
8. Serbuk simplisia daun sungkai	54
9. Ekstrak etanol daun sungkai	54
10. Jenis-jenis sel leukosit.....	55
11. Fagositosis sel makrofag peritoneum.....	56
12. Limfa mencit.....	56

DAFTAR SKEMA

Skema	Halaman
1. Prosedur kerja ekstraksi dan evaluasi ekstrak etanol daun sungkai	57
2. Prosedur kerja pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	58
3. Prosedur kerja penentuan jumlah total sel leukosit.....	59
4. Prosedur kerja jumlah jenis sel leukosit	60
5. Prosedur kerja penentuan persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum	61
6. Prosedur kerja penentuan persentasi bobot limfa relatif	62

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keberadaan organisme, baik tumbuhan, hewan dan manusia selalu dihadapkan dengan bahaya yang mengancam dari dunia luar. Salah satunya adalah penyakit yang disebabkan infeksi patogen seperti virus, parasit, jamur, mikroba, bakteri dan agen penginfeksi lainnya. Patogen tersebut mengandung berbagai bahan yang disebut imunogen atau antigen dan dapat menginduksi sejumlah respon imun (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018).

Respon imun adalah respon kolektif dan terkoordinasi dari sistem imun tubuh terhadap pengenalan zat asing. Respon imun terdiri dari respon imun spesifik dan respon imun nonspesifik. Proses fagositosis merupakan salah satu bagian dari respon imun nonspesifik. Fagositosis adalah proses sel imun memakan patogen atau partikel. Sel fagosit terdiri dari neutrofil, makrofag, sel dendritik dan sel natural killer. Makrofag diaktifkan oleh berbagai rangsangan. Makrofag dapat menangkap, memakan dan mencerna antigen eksogen, seluruh mikroorganisme, partikel tidak larut dan bahan endogen seperti sel pejamu yang cedera atau mati (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018).

Peningkatan pada sistem imun dapat ditandai dengan peningkatan persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag. Hal tersebut dapat ditingkatkan dengan zat-zat yang bersifat imunomodulator. Salah satu cara kerja imunomodulator yaitu imunostimulan. Imunostimulan adalah cara memperbaiki sistem imun dengan menggunakan bahan yang merangsang peningkatan sistem imun. Aktivitas imunostimulan juga dipengaruhi oleh jumlah sel leukosit dan bobot limfa relatif (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018).

Banyak tumbuhan yang mengandung senyawa-senyawa biokimia yang dapat berfungsi sebagai imunostimulan. Senyawa yang mempunyai prospek dalam meningkatkan aktivitas sistem imun adalah golongan flavonoid, kurkumin, limonoid, vitamin C, vitamin E dan katekin (Devargan, 2012). Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi untuk diteliti adalah sungkai (*Peronema canescens* Jack).

Tumbuhan sungkai adalah tumbuhan khas Indonesia yang terdapat di pulau Sumatera dan Kalimantan. Didaerah Palembang, Sumatera Selatan, daun sungkai digunakan untuk obat sakit demam atau penurun panas (Heyne, 1985). Dalam pengobatan suku serawai daun sungkai ditumbuk dan ditampal untuk sakit memar (Yusrin, 2008). Sadapan air batang sungkai diminum sebagai obat cacar (Darmawan dkk, 2014). Daun muda sungkai merupakan bahan baku obat herbal untuk antipiretik yang digunakan oleh suku Lembak Delapan di Bengkulu berdasarkan penelitian Yani, (2013).

Fraksi metanol daun sungkai memiliki aktivitas antibakteri yang paling baik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Kusriani, 2015). Fraksi etanol dari daun sungkai mampu meningkatkan aktivitas antimalaria dengan sangat nyata pada dosis terbaik sebesar 0.084g/kgBB berdasarkan penelitian Prasiwi dkk, (2018). Dalam penelitian Latief dkk, (2021) ekstrak etanol daun sungkai memiliki aktivitas antihiperurisemia dengan menurunkan kadar asam urat darah mencit dengan dosis efektif 500mg/KgBB. Pada penelitian Suswandi, (2007) diketahui bahwa ekstrak daun sungkai memiliki aktifitas antiplasmodium dan aktivitas sitotoksik yang rendah pada sel vero. Ekstrak daun sungkai mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, saponin

dan tannin (Kusriani, 2015). Di Sumatera Barat potensi tumbuhan sungkai belum dikenal secara luas.

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik untuk menguji aktivitas imunostimulan ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum pada mencit. Pada penelitian Aldi dkk, (2014) dalam melakukan analisis fagositosis makrofag, hewan percobaan diinduksi menggunakan bakteri. Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*, bakteri tersebut tidak dapat terhindar dari fagositik makrofag peritoneum karena tidak mengandung protein antifagositik (Jawetz dkk., 1995).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana efek pemberian ekstrak etanol daun sungkai terhadap peningkatan total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum dan persentasi bobot limfa relatif pada mencit ?
2. Apakah variasi dosis ekstrak etanol daun sungkai berpengaruh terhadap peningkatan total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum dan persentasi bobot limfa relatif pada mencit ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol daun sungkai terhadap peningkatan total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum dan persentasi bobot limfa relatif pada mencit.

2. Untuk mengetahui pengaruh variasi dosis ekstrak etanol daun sungkai terhadap peningkatan total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum dan persentasi bobot limfa relatif pada mencit.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi penulis, dapat menambah wawasan dan pengalaman tentang efek pemberian ekstrak etanol daun sungkai terhadap peningkatan total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum dan persentasi bobot limfa relatif pada mencit.
2. Bagi masyarakat, menginformasikan bahwa ekstrak etanol daun sungkai dapat digunakan sebagai obat sistem imun (imunostimulan).

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Biologi Tumbuhan Sungkai (*Peronema canescens* Jack)

2.1 1 Klasifikasi Tumbuhan

Klasifikasi ilmiah dari tumbuhan sungkai berdasarkan (Plantamor, 2008) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Lamiales
Famili : Lamiaceae
Genus : *Peronema*
Spesies : *Peronema canescens* Jack

2.1 2 Morfologi Tumbuhan

Tumbuhan sungkai memiliki batang lurus dan sedikit berlekuk dangkal, rantingnya memiliki bulu halus. Kulit pohon sungkai berwarna kelabu atau sawo muda, mengelupas kecil-kecil dan tipis. Pohon sungkai memiliki tinggi mencapai 20-30m. Daun tumbuhan sungkai berbentuk majemuk, daun menyirip berhadapan, bentuk lanset (panjang), ujung runcing dan tepi rata. Daun dengan permukaan licin, bagian bawah berbulu putih, warna daun hijau dan daun muda berwarna ungu. Bunga tumbuhan sungkai berbentuk malai, bercabang-cabang yang ukurannya besar. Buah akan muncul setelah musim bunga, merupakan buah tunggal yang saling berlekatan. Buah berupa drupe atau buah batu. Dan tumbuhan sungkai mempunyai akar tunggang berwarna coklat (Barid, 2015).

2.1 3 Nama Daerah

Di Indonesia tumbuhan sungkai dikenal juga sebagai jati sabrang, kurus, longkai atau sekai (Plantamor, 2008).

2.1 4 Habitat dan Penyebaran

Sungkai merupakan tumbuhan liar, namun karena tumbuhan ini bernilai ekonomis, banyak masyarakat membudidayakannya. Biasanya tumbuhan sungkai dapat dijumpai di hutan, kebun, maupun halaman. Sungkai dapat tumbuh dengan mudah dan tidak perlu perawatan khusus. Tanaman sungkai juga digunakan sebagai pembatas atau pagar hidup pekarangan rumah (Ningsih dkk, 2013). Tumbuhan sungkai dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian 0-600mdpl pada cuaca tropis dengan rata-rata curah hujan tahunan 2100-2700mm. Penanaman pohon sungkai memerlukan tanah dengan kandungan unsur hara yang baik dan tidak dianjurkan dilakukan pada tanah yang terbentuk antara batuan kapur pasir yang bercampur dengan tanah liat, yang kadar airnya rendah atau dikenal dengan tanah mergel, karena tumbuhan akan menjadi layu dan kering (Fransisca dkk, 2020). Sungkai merupakan tumbuhan khas Indonesia yang terdapat di Sumatera dan Kalimantan. Daerah penyebarannya mencakup wilayah Sumatera Barat, Jambi, Bengkulu, Sumatera Selatan, Lampung, Jawa Barat dan seluruh Kalimantan. Tumbuhan ini di Jawa Barat sering disebut jati sabrang dan di Kalimantan Selatan populer dengan nama longkai (Hidayat, 2008).

2.2 Tinjauan Farmakologi Tumbuhan Sungkai (*Peronema canescens* Jack)

Di daerah Palembang, Sumatera Selatan, daun sungkai digunakan untuk obat sakit demam atau penurunan panas (Heyne, 1985). Dalam pengobatan suku Serawai daun sungkai ditumbuk dan ditampal untuk sakit memar (Yusrin, 2008). Sadapan

air batang sungkai diminum sebagai obat cacar (Darmawan dkk, 2014). Daun muda sungkai merupakan bahan baku obat herbal untuk antipiretik yang digunakan oleh suku Lembak Delapan di Bengkulu berdasarkan penelitian Yani, (2013).

Fraksi metanol daun sungkai memiliki aktivitas antibakteri yang paling baik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Kusriani, 2015). Sedangkan menurut Prasiwi dkk, (2018), fraksi etanol dari daun sungkai mampu meningkatkan aktivitas antimalaria dengan sangat nyata pada dosis terbaik sebesar 0.084g/kgBB. Dalam penelitian Latief dkk, (2021) ekstrak etanol daun sungkai memiliki aktivitas antihiperurisemia dengan menurunkan kadar asam urat darah mencit dengan dosis efektif 500mg/KgBB. Pada penelitian Suswandi, (2007) diketahui bahwa ekstrak daun sungkai memiliki aktifitas antiplasmodium dan memiliki aktivitas sitotoksik yang rendah pada sel vero.

2.3 Tinjauan Kimia Tumbuhan Sungkai (*Peronema canescens* Jack)

Pada penelitian Ramadenti, (2017) senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada fraksi etil asetat daun *Peronema canescens* yaitu alkaloid, flavonoid, tanin dan fenolik. Menurut pendapat Winkel-Shirley, (2001) daun muda sungkai juga mengandung zat flavonoid, yang berperan besar sebagai pigmen merah, biru dan ungu yang terdapat pada sebagian besar tumbuhan tingkat tinggi. Menurut penelitian Kusriani, (2015) ekstrak kulit batang sungkai mengandung senyawa fenolik, tanin, alkaloid, steroid dan saponin. Sedangkan ekstrak daun sungkai mengandung senyawa fenolik, alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan saponin.

2.4 Tinjauan Umum

2.4 1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode yang digunakan untuk memisahkan senyawa aktif atau komponen tertentu dari komponen lain yang tidak diinginkan berdasarkan prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut yang dimulai dari pelapisan antar muka kemudian berdifusi masuk kedalam pelarut. Salah satu metode ekstraksi adalah maserasi. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar) (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Prinsipnya yaitu metode pencapaian konsentasi pada keseimbangan. Dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus) dan dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Remaserasi). Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan. Ekstraksi ini didasarkan pada kaidah *like dissolved like* yang artinya suatu senyawa akan larut pada suatu pelarut jika tingkat kepolarannya sama. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.4 2 Suspensi

Suspensi adalah sediaan yang mengandung obat padat dalam bentuk halus dan tidak larut, terdispersi dalam cairan pembawa. Zat yang terdispersi harus halus, tidak boleh cepat mengendap dan bila digojog perlahan-lahan endapan harus segera terdispersi kembali. Suspensi dalam farmasi digunakan dalam berbagai cara seperti intramuskuler injeksi, tetes mata, per-oral dan rektal. Dalam

pembuatan suspensi, langkah terpenting adalah pembasahan partikel dari serbuk yang tak larut didalam cairan pembawa (Anief, 2015).

2.5 Tinjauan Immunologi

2.5 1 Sistem Imunitas Tubuh

Sistem imun merupakan garis pertahanan tubuh pertama. Sistem imun adalah sel-sel dan struktur biologis lainnya yang bertanggung jawab atas imunitas. Imunitas yaitu pertahanan pada organisme untuk melindungi tubuh dari pengaruh biologis luar dengan mengenali dan membunuh patogen. Sistem imun manusia secara normal dapat membedakan antara jaringan tubuh sendiri (*self*) dengan bahan atau zat asing dari luar yang disebut antigen (*non-self*). Sistem imun bekerja berdasarkan respon imun. Respon imun diawali dengan adanya pengenalan molekul antigen oleh komponen sistem imun melalui reseptor yang menstimulasi sistem saraf didalam otak guna membangkitkan dan melakukan reaksi yang tepat guna mengeliminasi antigen (Antari, 2017).

Respon imun dibedakan menjadi respon imun nonspesifik (*innate immunity*) dan respon imun spesifik (*adaptive immunity*). Respon imun nonspesifik merupakan respon imun terdepan dalam menghadapi serangan infektor dan bahan asing. Respon imun alamiah ini bersifat nonspesifik yang kerjanya tidak ditujukan pada mikroorganisme atau bahan tertentu melalui proses fagositosis. Sedangkan respon imun spesifik akan memberikan reaksi pada infektor dan bahan asing karena adanya sel memori (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018).

2.5 2 Antigen dan Immunogenitas

Immunogenitas adalah kemampuan dari substansi untuk merangsang timbulnya respon imun humoral maupun respon imun seluler sehingga dihasilkan

antibodi atau limfosit T. Faktor–faktor yang dapat mempengaruhi immunogenitas antara lain (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018) :

1. Keasingan

Sistem imun yang normal dapat membedakan antara dirinya dan bukan dirinya sehingga untuk menjadi immunogenik substansi ini harus bersifat asing.

2. Faktor genetik

Ada kemungkinan dua orang yang berbeda sifat genetiknya menunjukkan respon imun yang berbeda terhadap antigen yang sama.

3. Ukuran molekul

Molekul antigen harus berukuran cukup besar walaupun belum diketahui ukuran molekul yang menentukan immunogenitas. Molekul – molekul seperti asam amino atau monosakarida umumnya kurang atau tidak bersifat immunogenik. Zat–zat yang mempunyai berat molekul kecil dari 10.000 bersifat immunogenik lemah atau tidak sama sekali, sedangkan zat yang mempunyai ukuran berat molekul besar dari 10.000 merupakan imunogen yang sangat potensial.

4. Kerumitan struktur kimia

Makin rumit atau makin kompleks struktur molekul antigen maka makin tinggi immunogenitasnya.

5. Metoda pemasukan antigen

Antigen yang diberikan secara intravena kurang immunogeniknya dibandingkan dengan antigen yang diberikan secara subkutan dan intraperitoneal.

6. Dosis

Bila dosis minimal suatu antigen telah dilampaui maka semakin tinggi

dosisnya akan meningkatkan respon imun secara sebanding, tetapi pada dosis tertentu akan terjadi sebaliknya yaitu menurunkan atau bahkan menghilangkan respon imun.

2.5 3 Imunomodulator

Imunomodulator adalah substansi atau senyawa yang dapat mengembalikan fungsi sistem imun yang terganggu (sistem kekebalan) tubuh. Imunomodulator bekerja menurut tiga cara berdasarkan Baratawidjaja dan Rengganis, (2018) yaitu :

1. Imunorestorasi ialah suatu cara untuk mengembalikan fungsi sistem imun yang terganggu dengan memberikan berbagai komponen sistem imun.
2. Imunostimulasi yang juga disebut imunopotensiasi adalah cara mengembalikan fungsi sistem imun dengan menggunakan bahan yang merangsang sistem tersebut.
3. Imunosupresan merupakan tindakan untuk mengembalikan fungsi sistem pertahanan tubuh dengan cara menekan respon imun. Kegunaan diklinik ternyata pada transplantasi dalam mencegah reaksi penolakan dan pada berbagai penyakit inflamasi yang menimbulkan kerusakan atau gejala sistemik.

2.5 4 Sel Fagositik

Sel fagositik termasuk dalam dua sistem komplementer yaitu sistem fagosit mononuklear terdiri atas sel yang bekerja lambat tetapi mampu melakukan fagositosis berulang-ulang. Sedangkan sistem fagosit polimorfonuklear terdiri atas sel yang bekerja cepat tetapi tidak mampu bertahan lama (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018).

1. Sistem fagosit mononuklear

Fagosit mononuklear terdiri dari monosit dalam sirkulasi darah dan makrofag yang terdapat di beberapa jaringan tubuh. Fagosit mononuklear dihasilkan oleh sel induk dalam sumsum tulang. Sel yang matang kemudian masuk kedalam aliran darah sebagai monosit. Monosit ini hanya berada dalam waktu singkat dalam darah (kira-kira 1 atau 2 hari) kemudian sel ini bermigrasi ke tempat kerja utama di jaringan dimana monosit ini akan berdiferensiasi lebih lanjut menjadi makrofag dan menetap di jaringan (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018).

Perubahan monosit menjadi makrofag melibatkan banyak perubahan sel ini akan membesar 5 sampai 10 kali lipat, organel intraseluler akan meningkat baik jumlah maupun kompleksitasnya, memperoleh kemampuan fagosit yang meningkat, menghasilkan kadar enzim yang meningkat, menghasilkan kadar enzim hidrolitik yang lebih tinggi dan mulai mensekresikan berbagai faktor. Makrofag merupakan fagosit penting. Sebagian makrofag menetap di jaringan tertentu dan sebagian lagi dalam bentuk bebas bersirkulasi. Sel makrofag yang menetap antara lain terdapat di paru-paru sebagai makrofag alveolus, di hati sebagai sel kuffers (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018).

2. Sistem fagosit polimorfonuklear

Fagosit polimorfonuklear atau granulosit dibentuk dalam sumsum tulang belakang dengan masa hidup lebih pendek (2-3 hari) dibandingkan dengan monosit atau makrofag yang dapat hidup selama berbulan-bulan bahkan tahun. Granulosit berjumlah sekitar 60-70% dari jumlah total sel leukosit dan ditemukan juga pada jaringan ekstrasvaskular. Sel polimorfonuklear mampu menempel dan berpenetrasi ke sel endotel pada pembuluh darah. Bentuk dewasa berinti terdiri

dari beberapa lobus dan berupa granul. Sel dikelompokkan menjadi sel neutrofil, eosinofil dan basofil. Neutrofil, eosinofil, basofil dinamakan granulosit karena sel ini mempunyai granul dalam sitoplasmanya. Granulosit diameternya antara 10-14mm. Identifikasi tergantung pada afinitasnya terhadap pewarnaan eosin yang berwarna merah sampai jingga, sedangkan sel yang memiliki afinitas zat warna biru atau zat warna basa dinamakan basophil. Granula neutrofil yang dinamakan segmen, leukosit poliorfonuklear, berwarna merah jambu atau biru dikelilingi sitoplasma berwarna merah jambu muda (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018).

a. Neutrofil

Neutrofil meliputi 90% dari seluruh granulosit dalam sirkulasi, berdiameter 10-20mm. Mempunyai dua jenis granul. Granul primer (azurofilik) yang mengandung lisosom terdiri dari hidrolase, mieloperoksidase dan lisosom, kemudian granul sekunder yang terdiri dari laktoferin. Inti neutrophil granulosit mempunyai bentuk khas bersegmen-segmen sampai lima lobus dan kromatin inti berwarna gelap. Sitoplasma banyak berwarna merah muda dan khas mengandung granul (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018).

Sel yang pertama timbul pada poses peradangan adalah neutrophil. Sel ini mengalami perkembangan dalam sumsum tulang. Perkembangan memerlukan waktu selama 14 hari, bila dilepaskan kedalam darah hanya selama 6-10 jam, kemudian masuk dan hanya hidup beberapa hari. Neutrofil dapat bergerak maju menuju daerah inflamasi karena dirangsang oleh faktor kemotaktik yang dilepaskan oleh komplemen atau leukosit teraktivasi. Seperti halnya sel makrofag, fungsi neutrofil yang utama adalah memberikan respon imun nonspesifik dengan

melakukan fagositosis serta membunuh atau menyingkirkan mikroorganisme yang masuk (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018).

b. Eusinofil

Eusinofil mengandung granula yang lebih besar dan berwarna merah pada pewarnaan. Inti berlobus-lobus tetapi biasanya hanya 2 atau 3 lobus. Granula sitoplasmanya berwarna merah cerah yang sebenarnya merupakan paket-paket enzim seperti pada neutrofil. Secara fungsional eusinofil melakukan hal yang sama memberi respon terhadap rangsangan kemotaktis, mencerna berbagai macam partikel dengan cara fagositosis dan mematikan organisme tertentu. Eusinofil penting sebagai perantara dalam respon alergi dan dalam pertahanan serangan parasit. Eusinofil juga berperan terutama sekali pada pertahanan dari serangan infeksi cacing. Kandungan sekret pada granula eusinofil bisa merusak membran parasit (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018).

c. Basofil

Basofil ditemukan dalam jumlah yang kecil dalam sirkulasi. Granulosit basofil merupakan leukosit yang tidak banyak dijumpai dalam darah normal, granulanya besar berwarna biru kehitaman atau biru tua. Mempunyai inti dengan satu lobus, mengandung heparin dan histamin. Basofil sangat erat kaitannya dengan sel mast, baik basofil maupun sel mast sangat berperan penting dalam reaksi alergi (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018).

2.5 5 Fagositosis

Fagositosis merupakan kerja sel berupa pencaplokan partikel melalui reseptor yang bersifat spesifik atau non spesifik pada permukaan membran sel dengan cara membentuk gelembung yang berasal dari membran selnya, kemudian

terjadi penyatuan gelembung-gelembung (fagosom) dengan gelembung lisosom yang mengandung cairan enzim (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018). .

Proses fagositosis diawali dengan pengikatan partikel tersebut oleh suatu zat (opsonisasi). Fagosit mononuklear mempunyai kemampuan bergerak dalam jaringan yang berlangsung secara acak atau terarah kepada suatu rangsangan kimiawi. Pergerakan tersebut diduga dibantu oleh kemampuan makrofag menghasilkan enzim proteolitik yang akan merintis lintasannya. Makrofag yang mendapatkan perlakuan biasanya selalu mengalami perubahan bentuk dan struktur. Bentuk dengan cepat berubah menjadi lebih pipih dan pada kaca nampak batasnya berigi-rigi, mengandung banyak lisosom dan bersifat lebih fagositik. Makrofag dengan keadaan demikian dinamakan makrofag teraktifkan. Aktivasi makrofag bersifat nonspesifik. Artinya, aktivasi makrofag oleh suatu zat tidak perlu adanya fagositosis yang ditujukan kepada zat tersebut (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018).

2.5 6 Mekanisme Fagositosis

Mekanisme fagositosis terdiri dari dua fase, yaitu (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018) :

1. Pergerakan (*Chemotaxis*)

Apabila suatu partikel antigen telah dikenali, maka sel fagosit akan bergerak menuju partikel tersebut. Pada proses ini antigen atau partikel asing mengeluarkan zat yang dapat memikat sel hidup seperti fagosit untuk menghampirinya.

2. Perlekatan (*Adhesion*)

Dalam sel, fagosit akan bergerak mengarah pada partikel asing, yang mana partikel tersebut akan melekat dengan reseptor pada membran sel fagosit.

3. Penelanan (*Ingestion*)

Pada saat partikel asing telah berikatan dengan reseptor di membran plasma sel fagosit, membran sel fagosit akan menyelubungi seluruh permukaan partikel asing dan menelannya ke sitoplasma dalam sebuah gelembung mirip vakuola yang disebut fagosom.

4. Pencernaan (*Digestion*)

Kemudian pada lisosom yang terdapat pada enzim penghancur seperti acid hydrolase dan peroksidase berfungsi dengan fagosom membentuk fagolisosom.

5. Pengeluaran (*Realising*)

Pada produk sisa yang mana partikel asing yang tidak dapat dicerna akan kemudian dikeluarkan oleh sel fagosit.

2.6 Tinjauan Stimuno Forte

Stimuno kapsul atau Stimuno Forte bermanfaat untuk membantu memperbaiki sistem kekebalan tubuh (imunomodulator), dengan membantu merangsang tubuh memproduksi lebih banyak antibodi dan mengaktifkannya sehingga bisa bekerja optimal. Obat ini mengandung bahan aktif ekstrak tanaman meniran hijau (*Phyllanthus niruri*) yang terdaftar sebagai sediaan fitofarmaka yang terstandarisasi dan telah melalui berbagai uji pre-klinik dan klinik. Tiap kapsul mengandung 50mg ekstrak tanaman meniran hijau. Stimuno Forte dikonsumsi

oleh orang dewasa (>12 th). Dosis yang dianjurkan adalah 1–3 kapsul per hari (Dexa Medica Group, 2014).



Gambar 1. Stimuno Forte

(Sumber : Dexa Medica)

2.7 Tinjauan Bakteri *Staphylococcus aureus*

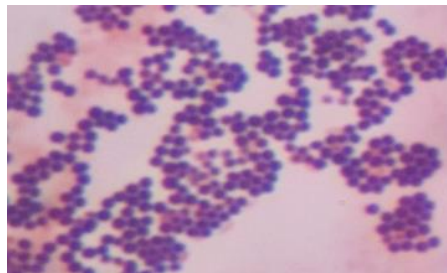
Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan Hill, (1981) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Eubacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Coccus
Ordo : Bacillales
Famili : Staphylococcaceae
Genus : Sthapylococcus
Species : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah jenis bakteri gram positif berbentuk bulat yang juga dikenal dengan nama “Staph emas”, berdiameter 0,7- 1,2µm. Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 37 °C, berkelompok seperti buah anggur dan berwarna emas pada agar darah. *Staphylococcus aureus* ini biasanya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning tua kecoklatan, berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau lebih dari 90% isolasi (Jawetz dkk., 1995). *Staphylococcus*

aureus merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar (Brooks dkk, 2007).

Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, phlebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomyelitis dan endocarditis. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosocomial, keracunan makanan dan sindrom syok toksik (Lowy, 1998).



Gambar 2. Pewarnaan bakteri *Staphylococcus aureus* pada perbesaran 1000x

(Sumber: Anonim, 2015)

2.8 Tinjauan Hewan Uji

Menurut Arrington (1972) klasifikasi mencit adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Divisi : Chordata

Class : Mamalia

Ordo : Rodentia

Family : Muridae

Genus : Mus

Species : *Mus musculus*.

Mencit termasuk ke dalam kelas Mamalia. Mencit adalah salah satu golongan hewan mamalia pengerat yang bersifat omivorus dan nocturnal. Ciri umum dari mencit yaitu memiliki warna kulit rambut tubuh putih atau keabu-abuan dengan perut sedikit pucat, mata berwarna merah atau hitam. Mencit memiliki bentuk tubuh yang kecil berwarna putih dengan memiliki siklus estrus yang pendek dan teratur antara 4-5 hari. Mencit jantan memiliki berat badan sekitar 18-35g. Biasanya mencit dapat hidup selama 1-2 tahun dan dewasa pada umur 35-60 hari. *Mus musculus* memiliki masa reproduksi 1,5 tahun dengan waktu kehamilannya 19-21 hari. Mencit dapat melahirkan 6-15 ekor. Berat dewasa mencit rata-rata 18-35g dan berat lahir 0,5-1g. Suhu rektal mencit 35-39°C dengan pernapasan 140-180kali/menit dan denyut jantung 600-650 kali/menit (Nugroho, 2018).

Mencit merupakan salah satu hewan percobaan efisien yang sering digunakan dalam penelitian. Hal ini dikarenakan mencit mudah dipelihara, tidak memerlukan tempat yang luas, waktu kehamilan yang singkat dan banyak memiliki anak perkelahiran. Mencit jantan dipilih karena mencit jantan tidak mempunyai hormon estrogen, jika ada jumlahnya pun relatif sedikit serta kondisi hormonal pada mencit jantan lebih stabil jika dibandingkan dengan mencit betina karena pada mencit betina mengalami perubahan hormonal pada masa-masa estrus, masa menyusui dan kehamilan dimana kondisi tersebut dapat mempengaruhi kondisi psikologis hewan uji tersebut. Tingkat stress pada mencit betina lebih tinggi dibandingkan dengan mencit jantan yang mungkin dapat mengganggu penelitian (Nugroho, 2018).

2.9 Tinjauan Metode Penelitian

Ada beberapa metode yang digunakan dalam pengujian efek imunomodulator. Beberapa di antaranya adalah uji analisis fagositosis sel makrofag, uji respon hipersensitivitas dan pengukuran antibodi (titer antibodi) (Roit, 1989).

1. Uji Analisis Fagositosis Sel Makrofag

Prinsip dasar uji analisis fagositosis sel makrofag yaitu proses memakan antigen yang melekat pada permukaan makrofag, sehingga makrofag membentuk sitoplasma lalu membungkus antigen tersebut. Hasil analisis diketahui dengan menghitung aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag.

2. Uji Respon Hipersensitivitas

Uji respon hipersensitivitas merupakan pengujian efek imunomodulator terkait dengan respon imun spesifik. Respon hipersensitivitas tipe lambat merupakan respon imun seluler yang melibatkan aktivasi sel Th yang akan melepaskan sitokin yang bersifat proinflamasi dan meningkatkan aktivitas makrofag yang ditandai dengan pembengkakan kaki hewan.

3. Titer Antibodi

Penilaian titer antibodi merupakan pengujian terhadap respon imun humoral. Peningkatan nilai titer antibodi terjadi karena peningkatan aktivasi sel Th yang menstimulasi sel B untuk pembentukan antibodi dan peningkatan aktivasi sel B dalam pembentukan antibodi.

BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilakukan selama 6 bulan dari bulan february sampai juli tahun 2021 di Laboratorium Farmakologi dan di Laboratorium Patologi Universitas Perintis Indonesia (UPERTIS).

3.2 Alat dan Bahan

3.2 1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah *rotary evaporator*, kertas saring, desikator, botol maserasi, timbangan analitik, pipet tetes, jarum injeksi, jarum oral, jarum ose, pingset steril, objek glass, tabung reaksi, gelas ukur, timbangan hewan, spatel, pipet mikro, mikroskop, wadah (botol), kaca objek, gunting bedah.

3.2 2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun sungkai segar (*Peronema canescens Jack*), etanol 96%, aquadest, Na CMC, pewarna Giemsa, NaCl fisiologi 0,9%, Na₂EDTA, minyak emersi, bakteri *Staphylococcus aureus*, pereaksi Mayer, pereaksi Liebermann-Burchard. Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan dengan berat 20-30 gram.

3.3 Metode Penelitian

3.3 1 Pengambilan Sampel

Sampel daun sungkai (*Peronema canescens Jack*) diperoleh di Jorong Banja Loweh Gadang, Kenagarian Banja Loweh, Kecamatan Bukik Barisan, Kabupaten Limapuluh Kota, Sumatera Barat.

3.3 2 Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas.

3.3 3 Penyiapan Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack)

Sebanyak 5Kg daun sungkai segar diambil lalu dibersihkan dan ditimbang, kemudian dikering anginkan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari langsung. Setelah proses pengeringan, diserbukkan dan ditimbang kembali. Selanjutnya sampel yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam botol untuk dimaserasi dengan etanol 70% sampai terendam (1:10). Rendam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, lalu diamkan selama 18 jam. Selanjutnya maserat disaring menggunakan kertas saring, ulangi maserasi sampai diperoleh maserat yang jernih dengan cara yang sama, lalu seluruh maserat digabungkan menjadi satu. Kemudian maserat diuapkan dengan *Rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

3.3 4 Evaluasi Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack)

(Departemen Kesehatan Republik Indonesia, (2000).

A. Pemeriksaan Karakteristik

1. Pemeriksaan Organoleptis

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

2. Penetapan Rendemen

Rendemen adalah persentasi perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan sampel awal yaitu sampel segar dan simplisia.

$$\%Rendemen = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

3. Pemeriksaan Kelarutan

Pemeriksaan kelarutan dilakukan dengan melarutkan 1g ekstrak pada air dan etanol 96%.

4. Pemeriksaan pH

Dengan menggunakan pH meter. Alat dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan dapar pH 4 dan larutan dapar pH 7. Angka yang muncul pada alat adalah harga pH larutan tersebut. Kemudian elektroda dicuci dengan aquadest lalu dikeringkan dengan tisu. Encerkan 1g ekstrak dengan aquadest hingga 10ml dalam wadah yang cocok. Elektroda dicelupkan kedalam wadah dan dibiarkan angka bergerak sampai diperoleh posisi konstan. Angka konstan pada pH meter merupakan harga pH ekstrak.

5. Penetapan Susut Pengerinan

Krus porselen dipanaskan dalam oven 105°C selama 30 menit kemudian didinginkan dalam desikator dan berat awal di timbang (A). Dimasukkan ekstrak sebanyak 1 gram kedalam krus tersebut dan di timbang kembali (B). Kemudian krus digoyang secara perlahan-lahan agar ekstrak merata. Masukkan ke dalam oven, buka tutup krus dan biarkan krus terbuka dalam oven. Dipanaskan selama 1 jam pada suhu 105°C, dinginkan dalam desikator kemudian timbang kembali (C). Diulangi perlakuan diatas hingga diperoleh bobot konstan. Hasil penimbangan dicatat dan dihitung susut pengeringannya dengan persamaan.

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{(B - A) - (C - A)}{(B - A)} \times 100\%$$

Keterangan : A= Berat krus kosong

B= Berat krus + sampel sebelum dipanaskan

C= Berat krus + sampel yang telah dipanaskan

6. Penetapan Kadar Abu

Sebanyak 2g simplisia dimasukkan ke dalam krus yang telah ditara dan ratakan, dipijarkan didalam furnes pada suhu 600°C selama 6 jam. Pijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap atau konstan. Hasil penimbangan dicatat dan dihitung kadar dengan persamaan:

$$\%Kadar\ abu = \frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan : A= Berat krus kosong

B= Berat krus porselen + sampel sebelum pemijaran

C= Berat krus porselen + sampel yang telah pemijaran

B. Skrining Fitokimia

Ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5ml aquadest dan 5 ml kloroform dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan air dan kloroform.

1. Pemeriksaan Alkaloid

Sedikit lapisan kloroform diambil lalu tambahkan 10ml kloroform amoniak 0.05N, kemudian diaduk perlahan. Tambahkan beberapa tetes H₂SO₄ 2N kemudian dikocok perlahan dan biarkan memisah. Kemudian lapisan asam diambil, lalu ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer. Adanya kabut putih hingga gumpalan putih menandakan positif alkaloid.

2. Pemeriksaan Flavonoid

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

3. Pemeriksaan Fenolik

Lapisan air diambil 1-2 tetes, teteskan pada plat tetes lalu tambahkan pereaksi FeCl₃, terbentuknya warna biru menandakan adanya kandungan fenolik.

4. Pemeriksaan Saponin

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

5. Pemeriksaan Steroid dan Terpenoid

Lapisan kloroform diambil sedikit ditambahkan norit, ditambahkan H₂SO₄(p), dan ditambahkan asam asetat anhidrat. Terbentuknya warna biru ungu menandakan adanya steroid dan jika terbentuk warna merah menunjukkan adanya terpenoid.

3.4 Persiapan Uji Efek Immunostimulan

3.4.1 Persiapan Hewan Uji

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan sebanyak 25 ekor, berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30g. Mencit dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok, dimana tiap kelompok terdiri dari 5 ekor. Sebelum digunakan sebagai hewan percobaan, semua mencit diaklimatisasi selama lebih kurang 1 minggu. Mencit yang digunakan adalah mencit yang sehat yang tidak menunjukkan penurunan terhadap berat badan berarti (deviasi maksimal 10%) serta secara visual menunjukkan perilaku yang normal.

3.4 2 Dosis yang Digunakan

Sebanyak 25 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok kontrol diberi Na CMC, kelompok pembanding diberi Stimuno Forte dan kelompok yang diberi perlakuan dengan tiga variasi dosis ekstrak etanol daun sungkai, yaitu 75 mg/KgBB, 150 mg/Kg dan 300 mg/KgBB. Variasi dosis tersebut adalah dosis eksperimental.

3.4 3 Pembuatan Sediaan

1. Pembuatan Suspensi Na CMC

Na CMC ditimbang sebanyak 0,5g, lalu ditaburkan diatas air panas sebanyak 20 kalinya didalam lumpang panas, dibiarkan mengembang selama 15 menit. Kemudian digerus hingga menjadi massa yang homogen dan diencerkan dengan aquadest ad volume yang direncanakan yaitu 100mL.

2. Pembuatan Suspensi Stimuno Forte

Suspensi Stimuno forte dibuat dengan cara Na CMC ditimbang 0,5g dikembangkan dengan air panas 20 kalinya. Setelah mengembang digerus kemudian ditambahkan serbuk Stimuno forte sebanyak 0,065g, gerus homogen dan cukupkan dengan aquadest sampai volume yang direncanakan yaitu 100mL.

3. Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Sungkai

Suspensi ekstrak etanol daun sungkai dibuat dengan cara Na CMC ditimbang 0,5g dikembangkan dengan air panas 20 kalinya. Setelah mengembang digerus kemudian ditambahkan ekstrak etanol daun sungkai sesuai dosis ekstrak yang direncanakan, gerus homogen dan cukupkan dengan aquadest sampai volume yang direncanakan yaitu 100mL.

4. Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (SA) dibiakkan pada Nutrient Agar (NA). Dari satu ose kultur SA diinokulasi kedalam media NA miring setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C kemudian disentrifugasi 5000 rpm selama 15 menit lalu terbentuk pellet dan disuspensikan dengan NaCl fisiologis 0,9%, setelah itu dibandingkan dengan larutan McFarland 0,5. Pembuatan larutan standar McFarland dengan cara dicampurkannya 9,95ml larutan H₂SO₄ 1% dengan 0,5mL larutan BaCl₂ 1% sehingga setara dengan 1,5 X 10⁸ CFU (koloni /mL) (Pro –Lab Diagnostics, 2012).

3.4.4 Perlakuan pada Hewan Percobaan

Mencit dikelompokkan menjadi 5 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit, sebagai berikut :

Kelompok kontrol : diberikan suspensi Na CMC 0,5%

Kelompok pembanding : diberikan suspensi Stimuno forte 0,065%

Kelompok 1 : diberikan suspensi ekstrak dengan dosis 75mg/KgBB

Kelompok 2 : diberikan suspensi ekstrak dengan dosis 150mg/KgBB

Kelompok 3 : diberikan suspensi ekstrak dengan dosis 300mg/KgBB

Dari hari ke-1 hingga ke-7 kelompok kontrol diberikan suspensi NaCMC, kelompok pembanding diberikan suspensi Stimuno Forte dan kelompok 1, 2, 3 diberikan suspensi ekstrak etanol daun sungkai dengan dosis yang berbeda secara per-oral, pada hari ke-8 tentukan total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, persentasi aktivitas dan kapasitas fagosit sel makrofag dan persentasi bobot limfa relatif.

3.5 Uji Efek Immunostimulan

3.5 1 Penentuan Total Sel Leukosit dengan Haemacytometer

Pada hari ke-8 ekor mencit dibasahi menggunakan etanol agar pembuluh darah vena ekor berdilatasi kemudian ujung vena ekor mencit dipotong dan diperoleh darah segar yang dimasukkan kedalam tabung EDTA. Darah segar dalam tabung 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 sel total leukosit dihitung pada keempat sudut kamar hitung.

3.5 2 Penentuan Jumlah Jenis Sel Leukosit dengan Metode Hapusan Darah

Darah segar dalam tabung EDTA diteteskan sebanyak 1 tetes pada kaca objek lalu dibuat preparat hapus dengan kaca objek lain sehingga diperoleh lapisan darah yang homogen (hapusan darah), lalu keringkan setelah kering tetesi dengan metanol, sehingga malapisi seluruh hapusan darah biarkan 5 menit. Ditambahkan satu tetes larutan Giemsa yang telah diencerkan dengan air suling (1:20) dan biarkan selama 20 menit. Cuci dengan air suling, keringkan dan tambahkan minyak emersi dan amati dibawah mikroskop okuler. Hitung jumlah sel eusinofil, basofil, neutrofil batang, neutrofil segmen, limfosit dan monosit pada perbesaran 1000x.

3.5 3 Penentuan Persentasi Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritoneum

Setelah total sel leukosit dan jumlah jenis sel leukosit dihitung, mencit pada masing masing kelompok diinfeksi dengan penyuntikan *Staphylococcus*

aureus dalam NaCl fisiologis 0,9% secara intraperitoneal (ip), kemudian dibiarkan selama 1 jam. Selanjutnya mencit dianestesi dan dibedah, kemudian ditambahkan Na₂EDTA pada cairan peritoneal. Cairan peritoneal diambil dengan menggunakan pipet mikro. Cairan tersebut dibuat preparat apus pada kaca ojek dan difiksasi dengan methanol selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan pewarnaan Giemsa didiamkan selama 20 menit, dibilas dengan air mengalir dan keringkan. Setelah sediaan kering, preparat dilihat dibawah mikroskop dengan menggunakan minyak emersi dengan perbesaran 1000x. Kemudian hitung aktivitas dan kapasitas sel fagositosis sel makrofag. Aktivitas fagositosis ditetapkan berdasarkan jumlah persentase fagosit yang melakukan fagositosis dari 100 sel fagosit dan kapasitas fagositosis ditetapkan berdasarkan jumlah *Staphylococcus aureus* yang difagositosiskan oleh 50 sel fagosit aktif (Chairul dkk,2009).

Nilai aktivias fagositosis :

$$\% \text{ Aktivitas} = \frac{\text{Jumlah makrofag aktif}}{\text{Jumlah makrofag keseluruhan (100)}} \times 100\%$$

Nilai kapasitas fagositosis:

$$\text{Kapasitas} = \frac{\text{Jumlah bakteri uji yang difagositosiskan}}{\text{Jumlah sel makrofag aktif (50)}}$$

3.5 4 Penentuan Persentasi Bobot Limfa Relatif

Setelah dilakukan penentuan total dan jenis sel leukosit, aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag, kemudian diambil limfanya, lalu timbang bobot limfa satu per satu.

$$\% \text{ Bobot limfa relatif} = \frac{\text{Bobot limfa}}{\text{Bobot badan}} \times 100\%$$

3.6 Pengolahan Data

Pada penelitian ini data hasil uji diolah secara analisa statistik dengan menggunakan metoda ANOVA karena data yang didapatkan berupa data kategorik dan numerik yang bersifat objektif. Pengujian dilakukan dengan menggunakan konsentrasi lebih dari dua. ANOVA yang digunakan pada penelitian ini adalah ANOVA satu arah karena variabel bebasnya hanya satu, yaitu variasi dosis yang digunakan. Uji ANOVA satu arah bertujuan untuk melihat apakah hasil yang didapat signifikan ($P \leq 0,05$). Kemudian uji anova ini dilanjutkan dengan uji berkala Duncan dengan menggunakan SPSS yang bertujuan untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan hasil antara masing-masing kelompok perlakuan.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak etanol daun sungkai diperoleh hasil sebagai berikut :

1. Hasil identifikasi yang telah dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan (*Peronema canescens* Jack) yang merupakan famili Lamiaceae dengan nomor identifikasi 128/K-ID/ANDA/III/2021 (Lampiran 1, Gambar 3).
2. Hasil pemeriksaan organoleptis terhadap ekstrak etanol daun sungkai didapat hasil ekstrak berbentuk cairan kental berwarna hijau kehitaman, memiliki bau khas sungkai dan rasa pahit (Lampiran 3, Tabel 2).
3. Hasil penetapan rendemen terhadap ekstrak etanol daun sungkai diperoleh rendemen basah sebesar 12,16% dan rendemen kering sebesar 3,58% (Lampiran 3, Tabel 1).
4. Hasil pemeriksaan kelarutan ekstrak terhadap air dan etanol 96% yaitu ekstrak agak sukar larut dalam air (1:31) dan larut dalam etanol 96% (1:12) (Lampiran 3, Tabel 2).
5. Hasil pemeriksaan pH ekstrak yang dilarutkan dalam 10 ml air yaitu 4,77 (Lampiran 3, Tabel 2).
6. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak yaitu 9,05% (Lampiran 3, Tabel 3).
7. Hasil penetapan kadar abu dari ekstrak yaitu 3,99% (Lampiran 3, Tabel 4).

8. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun sungkai diperoleh ekstrak etanol daun sungkai mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid dan terpenoid (Lampiran 3, Tabel 5).
9. Hasil penentuan total sel leukosit darah mencit menggunakan haemocytometer setelah diberi perlakuan selama 7 hari diperoleh pada kelompok kontrol adalah 6690 sel/ μ L, kelompok pembanding adalah 6760 sel/ μ L, kelompok 1 adalah 7610 sel/ μ L, kelompok 2 adalah 8550 sel/ μ L dan kelompok 3 adalah 10100 sel/ μ L (Lampiran 5, Tabel 7).
10. Hasil penentuan jumlah jenis sel leukosit darah mencit setelah diberi perlakuan selama 7 hari diperoleh pada kelompok kontrol, kelompok pembanding, kelompok 1, kelompok 2 dan kelompok 3 berturut-turut adalah sel eusinofil 0,2, 1,2, 1,6, 1,8, 2, sel neutrofil batang 1,4, 1,8, 4,8, 5,8, 7,6, sel neutrofil segmen 44,2, 47, 60,8, 62,8, 63, sel limfosit 24,4, 25,6, 39,6, 41,8, 42 dan sel monosit 15,8, 12,6, 9,2, 5,6, 5,2 (Lampiran 5, Tabel 9).
11. Hasil penentuan persentasi aktivitas fagositosis sel makrofag peritoneum rata-rata setelah diberi perlakuan selama 7 hari diperoleh pada kelompok kontrol adalah 14%, kelompok pembanding adalah 24,6%, kelompok 1 adalah 31%, kelompok 2 adalah 39% dan kelompok 3 adalah 41% (Lampiran 5, Tabel 15).
12. Hasil penentuan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum rata-rata setelah diberi perlakuan selama 7 hari diperoleh pada kelompok kontrol adalah 13, kelompok pembanding adalah 23,4, kelompok 1 adalah 30, kelompok 2 adalah 47 dan kelompok 3 adalah 61 (Lampiran 5, Tabel 17).
13. Hasil penentuan persentasi bobot limfa relatif setelah diberi perlakuan selama 7 hari diperoleh pada kelompok kontrol adalah 0,38%, kelompok pembanding

adalah 0,41%, kelompok 1 adalah 0,43%, kelompok 2 adalah 0,65% dan kelompok 3 adalah 0,74% (Lampiran 5, Tabel 19).

4.2 Pembahasan

Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui efek pemberian dan pengaruh variasi dosis ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, persentasi aktivitas dan kapasitas sel makrofag peritoneum dan persentasi bobot limfa relatif pada mencit.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Jorong Banja Loweh Godang, Kenagarian Banja Loweh, Kecamatan Bukik Barisan, Kabupaten Limapuluh Kota, Sumatera Barat. Tumbuhan diidentifikasi terlebih dahulu dengan tujuan untuk memastikan kebenaran tumbuhan yang digunakan dan mencegah terjadinya kesalahan penggunaan tumbuhan dalam penelitian. Hasil identifikasi tumbuhan yang dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA). Herbarium Universitas Andalas (ANDA) menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini benar adalah *Peronema canescens* Jack yang merupakan family Lamiaceae dengan nomor identifikasi 128/K-ID/ANDA/III/2021 (Lampiran 1, Gambar 3).

Proses ekstraksi digunakan metode maserasi, yaitu untuk menyari zat-zat aktif yang terkandung dalam simplisia daun sungkai. Maserasi dipilih karena dibandingkan dengan metode refluks atau soklet, maserasi dapat digunakan untuk mengekstrak sampel yang tahan ataupun tidak tahan panas. Ekstraksi menggunakan refluks atau soklet dikhawatirkan akan merusak komponen sampel yang akan dianalisis akibat pemanasan, sehingga kemungkinan terjadinya penguraian zat aktif yang terkandung dalam sampel oleh pengaruh suhu dapat

dihindari karena tidak ada pemanasan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Sebanyak 5Kg daun sungkai segar diambil lalu dibersihkan dan ditimbang, kemudian dikering anginkan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari langsung selama 5 hari. Setelah proses pengeringan, diserbukkan dan ditimbang kembali. Tujuan dari pengeringan ini adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak dan tahan lama. Berkurangnya kadar air dapat menghentikan reaksi enzimatis yang dapat menyebabkan penurunan mutu dan pengrusakan senyawa yang terdapat dalam simplisia tersebut (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Sampel diserbukkan menggunakan *blender* agar memperluas permukaan simplisia dengan pelarut sehingga pelarut dapat berpenetrasi secara cepat kedalam simplisia dan proses ekstraksi dapat lebih optimal, tetapi tidak perlu diserbuk sampai halus karena bentuk daun yang lunak sehingga mudah diserap oleh pelarut (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Setelah kering lalu ditimbang dan diperoleh berat kering 1475g.

Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam botol untuk dimaserasi dengan etanol 70% sampai terendam (1:10). Pelarut yang digunakan adalah etanol, karena pelarut ini relatif kurang toksik dibanding pelarut organik lainnya, berdasarkan sifatnya sebagai pelarut universal yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semipolar maupun nonpolar. Etanol yang digunakan adalah etanol 70% karena sampel yang digunakan adalah sampel kering yang memiliki kandungan air yang relatif sedikit sehingga dapat menarik sebagian besar senyawa kimia yang terkandung di dalam simplisia optimal (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Rendam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, lalu diamkan selama 18 jam. Pengadukan pada maserasi dilakukan dengan tujuan

untuk meningkatkan kontak antar serbuk simplisia dengan pelarut sehingga zat-zat aktif dalam simplisia banyak yang tersari dalam larutan penyari (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Selanjutnya maserat disaring menggunakan kertas saring, ulangi maserasi sampai diperoleh maserat yang jernih dengan cara yang sama, lalu seluruh maserat digabungkan menjadi satu. Kemudian maserat diuapkan dengan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak kental 179,41g.

Dilakukan karakterisasi dan skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol daun sungkai. Karakterisasi meliputi parameter spesifik yaitu pemeriksaan organoleptis, penetapan rendemen, pemeriksaan kelarutan, pemeriksaan pH dan parameter non spesifik yaitu susut pengeringan dan kadar abu (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Pada pemeriksaan organoleptis diperoleh ekstrak kental yang berwarna hijau kehitaman, dengan bau khas dan memiliki rasa pahit (Lampiran 3, Tabel 2). Pemeriksaan ini dilakukan dengan tujuan sebagai memberikan pengenalan awal ekstrak secara objektif. Hasil ini dapat digunakan sebagai dasar untuk menguji ekstrak selama penyimpanan yang dapat mempengaruhi khasiatnya (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Penetapan rendemen ekstrak diperoleh rendemen basah sebesar 3,58% dan rendemen kering sebesar 12,16% (Lampiran 3, Tabel 1). Rendemen bertujuan untuk membandingkan ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Ekstrak etanol daun sungkai agak sukar larut dalam air dan larut dalam etanol 96% (Lampiran 3, Tabel 2), pH ekstrak yang dilarutkan dalam 10ml air yaitu 4.77 menunjukkan ekstrak etanol daun sungkai bersifat asam (Lampiran 3, Tabel 2).

Hasil penetapan susut pengeringan diperoleh 9,05%, (Lampiran 3, Tabel 3) dan penetapan kadar abu (Lampiran 3, Tabel 4) diperoleh 3,99%, hasil tersebut sudah sesuai dengan standar umum ekstrak yaitu penetapan susut pengeringan <15% dan penetapan kadar abu <10% (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Penetapan susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui batasan maksimal besarnya senyawa yang hilang selama proses pengeringan sedangkan kadar abu untuk mengetahui dan memberi gambaran kandungan mineral yang berasal dari awal sampai akhirnya terbentuk ekstrak, dimana senyawa organik dan turunannya tereduksi dan menguap sehingga tinggal unsur mineral dan senyawa anorganik (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Dari hasil skrining fitokimia diperoleh ekstrak etanol daun sungkai memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid dan terpenoid (Lampiran 3, Tabel 5), tetapi ekstrak etanol daun sungkai tidak mengandung saponin. Hasil tersebut berbeda dengan hasil yang diperoleh pada penelitian Kusriani, (2015) bahwa ekstrak daun sungkai mengandung senyawa fenolik, alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan saponin. Ini bisa terjadi karena keberadaan senyawa dalam tanaman dapat dipengaruhi oleh perbedaan kondisi lingkungan tempat tumbuh, suhu, sinar ultraviolet, hara, ketersediaan air dan kadar CO₂ dalam atmosfer.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian untuk melihat efek imunostimulan ekstrak etanol daun sungkai terhadap respon imun nonspesifik dan respon imun spesifik. Respon imun nonspesifik dan respon imun spesifik dapat dilihat dengan menghitung persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum, total sel leukosit dan jumlah jenis sel leukosit dan peningkatan persentasi bobot limfa relatif pada hewan uji.

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan. Mencit dipilih karena anatomi dan fisiologinya hampir sama dengan manusia, mudah dalam penanganan serta biaya yang lebih terjangkau (Thompson, 1990). Mencit jantan dipilih karena mempunyai hormon estrogen yang jumlahnya relatif sedikit atau tidak ada serta kondisi hormonal pada mencit jantan lebih stabil jika dibandingkan dengan mencit betina karena pada mencit betina mengalami perubahan hormonal pada masa-masa estrus, masa menyusui dan kehamilan dimana kondisi tersebut dapat mempengaruhi kondisi psikologis hewan uji tersebut. Tingkat stress pada mencit betina lebih tinggi dibandingkan dengan mencit jantan yang mungkin dapat mengganggu penelitian (Nugroho, 2018).

Sebelum diberi perlakuan mencit diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari, dengan tujuan agar membiasakan mencit pada kondisi lingkungan, mengontrol kesehatan dan berat badan (20-30g), serta menyeragamkan makanannya agar tidak menunjukkan perubahan berat badan lebih dari 10%. Sebanyak 25 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, satu kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Pertama kelompok kontrol yang hanya diberi suspensi Na CMC 0,5%, selanjutnya kelompok pembanding yang diberi suspensi Stimuno Forte 0,065%, kelompok 1, 2 dan 3 diberi suspensi ekstrak etanol daun sungkai dengan variasi konsentrasi dosis yang berbeda yaitu 75mg/KgBB, 150mg/KgBB dan 300mg/KgBB. Dosis yang digunakan tersebut adalah dosis eksperimental.

Ekstrak etanol daun sungkai dibuat sediaan suspensi karena tidak larut secara sempurna didalam air. Pensuspensi yang digunakan adalah Na CMC dengan konsentrasi 0,5% dimana pada konsentrasi ini terbentuk suspensi yang baik. Penggunaan Na CMC kerana dapat menghasilkan suspensi yang stabil,

kejernihannya tinggi dan bersifat inert sehingga tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Serta karena mempunyai toksisitas yang rendah dan terdispersi di dalam air dibandingkan dengan pensuspensi lain. Pengamatan efek dilakukan dengan pemberian suspensi kepada mencit selama 7 hari berturut-turut secara peroral, tujuannya agar memberikan kesempatan bagi sampel untuk meningkatkan jumlah sel fagosit yang mempengaruhi sistem imun.

Pada hari kedelapan dilakukan pemeriksaan total sel leukosit dan jumlah jenis leukosit. Pemeriksaan total sel leukosit digunakan alat yang disebut *haemocytometer*. Didapatkan hasil total sel leukosit pada kelompok kontrol adalah 6690 sel/ μ L, kelompok pembanding adalah 6760 sel/ μ L, kelompok 1 adalah 7610 sel/ μ L, kelompok 2 adalah 8550 sel/ μ L dan kelompok 3 adalah 10100 sel/ μ L (Lampiran 5, Tabel 7). Hal ini membuktikan bahwa terjadi peningkatan total sel leukosit pada setiap kelompok, dari kelompok kontrol sampai kelompok uji.

Data selanjutnya diolah secara statistik dengan uji ANOVA satu arah program SPSS 16.0. Data hasil total leukosit menunjukkan pengaruh yang signifikan dengan nilai ($P < 0,05$) (Lampiran 5, Tabel 8). Analisis statistik dilanjutkan dengan uji Duncan, yang menunjukkan bahwa kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan kelompok pembanding, tetapi berbeda nyata dengan kelompok 1, kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok pembanding berbeda nyata dengan kelompok 1, kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok 1 berbeda nyata dengan kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok 3 berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Lampiran 5, Tabel 8). Berdasarkan uji Duncan disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sungkai pada kelompok 1, 2 dan 3 memiliki pengaruh terhadap jumlah total sel leukosit.

Dari data hasil penelitian setelah pemberian ekstrak etanol daun sungkai menunjukkan total sel leukosit mengalami peningkatan. Kadar sel leukosit dalam 1mm³ darah sebanyak 5000-10000 sel/ μ L pada manusia dewasa, sedangkan pada mencit putih diketahui kadar sel leukosit dalam 1mm³ darah sebanyak 5000-15000sel/ μ L. Leukosit tinggi umumnya berarti tubuh kita sedang melawan infeksi. Leukosit rendah artinya ada masalah dengan sumsum tulang. Leukosit rendah yang disebut leukopenia atau sitopenia, berarti tubuh kita kurang mampu melawan infeksi (Baratawidjaya dan Rengganis, 2018). Pada penelitian ini, peningkatan total sel leukosit disebabkan karena senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun sungkai.

Pada pemeriksaan hapusan darah dilakukan untuk menghitung jumlah jenis sel leukosit yaitu sel eosinofil, sel neutrofil batang, sel neutrofil segmen, sel limfosit dan sel monosit setelah dilakukan pewarnaan dengan Giemsa. Pada pewarnaan Giemsa sel basofil tidak ditemukan, karena sel basofil bersifat basa sehingga sel tersebut larut dalam pewarna Giemsa. Hasil penentuan jumlah jenis sel leukosit darah diperoleh pada kelompok kontrol, kelompok pembanding, kelompok 1, kelompok 2 dan kelompok 3 berturut-turut adalah sel eosinofil 0,2, 1,2, 1,6, 1,8, 2, sel neutrofil batang 1,4, 1,8, 4,8, 5,8, 7,6, sel neutrofil segmen 44,2, 47, 60,8, 62,8, 63, sel limfosit 24,4, 25,6, 39,6, 41,8, 42 dan sel monosit 15,8, 12,6, 9,2, 5,6, 5,2 (Lampiran 5, Tabel 10). Dari hasil dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak etanol daun sungkai berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel leukosit di setiap kelompok.

Data selanjutnya diolah secara statistik dengan uji ANOVA satu arah program SPSS 16.0. Pada tabel ANOVA satu arah untuk sel eosinofil menunjukkan data

yang tidak signifikan yaitu ($P>0,05$) (Lampiran 5, Tabel 10). Sedangkan pada sel neutrofil batang, sel neutrofil segmen, sel limfosit dan sel monosit menunjukkan data yang signifikan yaitu sel neutrofil batang ($P<0,05$) (Lampiran 5, Tabel 11), sel neutrofil segmen ($P<0,05$) (Lampiran 5, Tabel 12), sel limfosit ($P<0,05$) (Lampiran 5, Tabel 13) dan sel monosit ($P<0,05$) (Lampiran 5, Tabel 14).

Analisa statistik dilanjutkan dengan uji Duncan, dimana hasilnya menunjukkan bahwa sel eosinofil pada kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan kelompok pembanding dan kelompok 1, tetapi berbeda nyata dengan kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok pembanding dan kelompok 1 memiliki nilai yang tidak nyata karena muncul di kedua subset. Kelompok 2 tidak berbeda nyata dengan kelompok 3. Kelompok 3 berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Lampiran 5, Tabel 10). Untuk neutrofil batang kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan kelompok pembanding, tetapi berbeda nyata dengan kelompok 1, kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok pembanding berbeda nyata dengan kelompok 1, kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok 1 tidak berbeda nyata dengan kelompok 2, tetapi berbeda nyata dengan kelompok 3. Kelompok 2 memiliki nilai tidak nyata karena muncul di dua subset. Kelompok 3 berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Lampiran 5, Tabel 11).

Untuk sel neutrofil segmen kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan kelompok pembanding dan kelompok 1, tetapi berbeda nyata dengan kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok pembanding dan kelompok 1 memiliki nilai tidak nyata karena muncul di kedua subset. Kelompok 2 tidak berbeda nyata dengan kelompok 3. Kelompok 3 berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Lampiran 5, Tabel 12). Untuk sel limfosit kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan

kelompok pembanding, tetapi berbeda nyata dengan kelompok 1, kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok 1 tidak berbeda nyata dengan kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok 2 tidak berbeda nyata dengan kelompok 3. Kelompok 3 berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Lampiran 5, Tabel 13). Dan untuk sel monosit kelompok 3 tidak berbeda nyata dengan kelompok 2 dan kelompok 1, tetapi berbeda nyata dengan kelompok kontrol dan kelompok pembanding. Kelompok 2 tidak berbeda nyata dengan kelompok 1, tetapi berbeda nyata dengan kelompok pembandingan kelompok kontrol. Kelompok 1 dan kelompok pembanding memiliki nilai yang tidak nyata karena muncul di dua subset. Kelompok kontrol berbeda nyata dengan kelompok 3 (Lampiran 5, Tabel 14). Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa variasi dosis dapat mempengaruhi jumlah jenis sel leukosit.

Untuk jumlah jenis sel leukosit pada eosinofil, neutrofil batang, neutrofil segmen dan limfosit mengalami kenaikan, tetapi pada sel monosit mengalami penurunan. Eusinofil biasanya 1-3% dari leukosit. Sel ini terlibat dengan alergi dan tanggapan terhadap parasit. Sedangkan neutrofil berfungsi melawan infeksi bakteri. Biasa jumlahnya adalah 55-70% dari leukosit. Jika neutrofil kita rendah (disebut neutropenia), kita lebih mudah terkena infeksi bakteri. Pada sel limfosit, ada dua jenis limfosit utama, yang pertama sel-T yang menyerang dan membunuh kuman, serta membantu mengatur sistem kekebalan tubuh dan sel-B yang membuat antibodi, protein khusus yang menyerang kuman. Jumlah limfosit umumnya 20-40% dari leukosit (Baratawidjaya dan Rengganis, 2018).

Monosit atau makrofag mencakup 2-8% dari leukosit yang berfungsi melawan infeksi dengan memakan antigen dan memberi tahu sistem kekebalan tubuh

mengenai antigen apa yang ditemukan. Monosit beredar dalam darah. Monosit yang berada di berbagai jaringan tubuh disebut makrofag. Jumlah monosit yang tinggi umumnya menunjukkan adanya infeksi bakteri. Pada hasil penelitian diketahui bahwa jumlah jenis sel monosit mengalami penurunan, karena monosit berdiferensiasi menjadi sel makrofag dan menetap di jaringan (Baratawidjaya dan Rengganis, 2018).

Setelah total sel leukosit dan jumlah jenis sel leukosit dihitung, disuntikkan bakteri *Staphylococcus aureus* yang disuspensikan dalam NaCl 0,9% pada mencit sebagai antigen. *Staphylococcus aureus* digunakan sebagai antigen karena mudah didapat, harganya murah dan termasuk dalam jenis bakteri gram positif yang mampu mengikat warna Giemsa dengan jelas karena memiliki peptidoglikan tebal serta memiliki bentuk yang bulat sehingga memudahkan dalam perhitungan di bawah mikroskop. Keuntungan lain, bakteri ini tidak mengandung protein, yaitu protein yang bersifat antifagositik, ketiadaan protein tersebut menyebabkan *Staphylococcus aureus* tidak dapat menghindar dari fagositosis makrofag peritoneum (Jawetz dkk, 1995). Suspensi bakteri dibandingkan kekeruhannya dengan larutan Mc Farland 0,5 untuk menyeragamkan konsentrasi bakteri. Suspensi bakteri disuntikkan secara intraperitoneal karena sel makrofag yang diamati adalah makrofag intraperitoneal dan injeksi secara intraperitoneal dapat langsung diserap dengan cepat. Beberapa saat setelah disuntikkan ke dalam tubuh mencit, makrofag segera memfagositosis bakteri tersebut, walaupun biasanya tidak berada dalam jumlah yang cukup untuk menghadapi serangan tersebut. Makrofag mampu menahan infeksi selama periode satu jam pertama (Jawetz dkk, 1995). Atas dasar pertimbangan tersebut maka pengambilan makrofag

dilakukan sekitar satu jam setelah induksi bakteri, sehingga dapat diketahui sejauh mana makrofag dapat menelan bakteri.

Pada uji persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag ekstrak etanol daun sungkai didapat hasil rata-rata persentasi aktivitas pada kelompok kontrol adalah 14%, kelompok pembanding adalah 28%, kelompok 1 adalah 31%, kelompok 2 adalah 39% dan kelompok 3 adalah 41% (Lampiran 5, Tabel 16). Sedangkan hasil rata-rata kapasitas fagositosis pada kelompok kontrol adalah 13, kelompok pembanding adalah 23,4, kelompok 1 adalah 30, kelompok 2 adalah 47 dan kelompok 3 adalah 61 (Lampiran 5, Tabel 18).

Data selanjutnya diolah secara statistik dengan uji ANOVA tu arah program SPSS 16.0. Pada tabel ANOVA satu arah untuk persentasi aktivitas (Lampiran 5, Tabel 14) dan kapasitas (Lampiran 5, Tabel 16), fagositosis sel makrofag sama yaitu menunjukkan pengaruh yang signifikan dengan nilai ($P < 0,05$). Analisis statistik dilanjutkan dengan uji Duncan, dimana hasilnya menunjukkan bahwa persentasi aktivitas fagositosis sel makrofag pada kelompok kontrol berbeda nyata dengan kelompok pembanding, kelompok 1, kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok pembanding tidak berbeda nyata dengan kelompok 1, tetapi berbeda nyata dengan kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok 1 memiliki nilai yang tidak nyata karena muncul di dua subset. Kelompok 3 berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Lampiran 5, Tabel 16). Hasil untuk kapasitas fagositosis sel makrofag menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol berbeda nyata dengan kelompok pembanding, kelompok 1, kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok pembanding tidak berbeda nyata dengan kelompok 1, tetapi berbeda nyata dengan kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok 2 berbeda nyata dengan kelompok 3. Kelompok 3

berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Lampiran 5, Tabel 18). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian dan variasi dosis ekstrak etanol daun sungkai berpengaruh terhadap persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum. Makrofag dan neutrofil saling melengkapi dan bekerja sama dalam proses fagositosis (Baratawidjaya dan Rengganis, 2018).

Pada perhitungan persentasi bobot limfa relatif pada mencit dengan melakukan penimbangan limfa terhadap berat badan mencit. Hasil penentuan persentasi bobot limfa relatif pada kelompok kontrol adalah 0,38%, kelompok pembanding adalah 0,41%, kelompok 1 adalah 0,43%, kelompok 2 adalah 0,65% dan kelompok 3 adalah 0,74% (Lampiran 5, Tabel 20).

Data selanjutnya diolah secara statistik dengan uji anova satu arah program SPSS 16.0. Pada tabel anova satu arah untuk persentasi bobot limfa relatif menunjukkan pengaruh yang signifikan dengan nilai ($P < 0,05$) (Lampiran 5, Tabel 20). Analisa statistik dilanjutkan dengan uji Duncan, hasilnya menunjukkan bahwa kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan kelompok pembandingan kelompok 1, tetapi berbeda nyata dengan kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok pembanding tidak berbeda nyata dengan kelompok 1, tetapi berbeda nyata dengan kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok 1 berbeda nyata dengan kelompok 2 dan kelompok 3. Kelompok 2 tidak berbeda nyata dengan kelompok 3. Kelompok 3 berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Lampiran 5, Tabel 20).

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa pemberian dan pengaruh variasi konsentrasi dosis ekstrak etanol daun sungkai berbanding lurus terhadap peningkatan limfosit pada pengukuran jumlah jenis sel leukosit. Limfa sebagai organ limfoid sekunder mengandung sel limfosit B dan limfosit T yang berperan

pada proses respon imun nonspesifik. Selain itu, pada limfa juga terdapat sel dendritik dan makrofag yang berperan sebagai APC (*Antigen Presenting Cell*) yang berfungsi sebagai penyaji antigen kepada sel limfoid. Kenaikan bobot limfa relatif disebabkan karena pada limfa terjadi diferensiasi dan proliferasi limfosit, sehingga terjadi pembesaran pada limfa. Peningkatan sel respon imun berhubungan dengan bobot limfa maka limfa dijadikan sebagai sistem limforetikular yang berperan dalam fagositosis antigen serta dapat dijadikan parameter dalam uji respon imun spesifik (Baratawidjaja dan Rengganis, 2018).

Data yang didapat dari semua parameter menunjukkan hasil yang mengalami peningkatan. Ini disebabkan karena kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid dan terpenoid pada ekstrak etanol daun sungkai yang mempunyai prospek sebagai imunostimulan. Mekanisme flavonoid dan alkaloid sebagai imunostimulan dengan meningkatkan aktivitas IL-2 (interleukin 2) dan proliferasi limfosit. Sel Th1 (T helper 1) yang teraktivasi akan mempengaruhi SMAF (Specific Macrophage Arming Factor), yaitu molekul-molekul termasuk IFN γ (interferon gamma) yang dapat mengaktifkan makrofag. Jika terdapat antigen yang masuk ke tubuh, misalnya bakteri, maka limfosit T dan makrofag saling bekerja sama untuk membunuh bakteri tersebut. Makrofag akan memfagosit bakteri dan limfosit T berdiferensiasi menjadi CD4 $^{+}$ dan CD8 $^{+}$. Sel CD4 $^{+}$ berdiferensiasi menjadi Th1 yang kemudian menghasilkan sitokin IFN γ dan TNF α serta memacu sel Natural Killer. Sel CD8 $^{+}$ pun menghasilkan sitokin IFN γ . Sitokin tersebut akan mengaktifkan makrofag untuk menghasilkan senyawa salah satunya nitritoksida yang berguna membunuh bakteri (Estany dkk, 2007). Sedangkan saponin memproduksi sitokin seperti interleukin dan interferon yang

berperan dalam efek imunostimulan. Interleukin dan interferon akan bereaksi dengan antigen (benda-benda asing) yang masuk kedalam tubuh (Francis dkk, 2002).

Dari penelitian ini didapat bahwa pada total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag dan persentasi bobot limfa relatif menunjukkan semakin tinggi dosis, maka semakin tinggi juga total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag dan persentasi bobot limfa relatif dengan jumlah sel dan jumlah bakteri yang meningkat dari dosis terendah hingga tertinggi, hal tersebut dapat diartikan bahwa ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) berpengaruh terhadap beberapa parameter tersebut. Dimana dalam penelitian ini, dosis dengan 75mg/KgBB merupakan dosis efektif yang digunakan dalam efek imunomodulator yang mempunyai aktivitas imunostimulan. Hasil yang diperoleh dari dosis 75mg/KgBB pada uji lanjut Duncan persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritonem berada dalam satu subset dengan pembanding dan dari semua parameter uji dosis tersebut memiliki efek yang sama dengan dosis yang lebih besar. Jika efek yang didapat sama, maka lebih baik digunakan dosis yang lebih rendah.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan tentang uji efek imunostimulan ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, persentasi aktivitas dan kapasitas sel makrofag peritoneum dan persentasi bobot limfa relatif pada mencit dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) berefek dalam meningkatkan total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, persentasi aktivitas dan kapasitas sel makrofag peritoneum dan persentasi bobot limfa relatif pada mencit.
2. Variasi dosis berpengaruh terhadap peningkatan total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, persentasi aktivitas dan kapasitas sel makrofag peritoneum, dan persentasi bobot limfa relatif dari mencit. Dimana didapatkan dosis dengan konsentrasi 0,75% merupakan dosis yang paling efektif yang dapat memberikan aktivitas imunostimulan, dengan analisis statistik uji anova satu arah persentasi aktivitas dan kapasitas sel makrofag peritoneum didapatkan hasil yang signifikan ($P < 0,05$).

5.2 Saran

Disarankan untuk peneliti selanjutnya melakukan penelitian tentang isolasi senyawa aktif daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) yang berperan dalam peningkatan total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, persentasi aktivitas dan kapasitas sel makrofag peritoneum dan persentasi bobot limfa relatif pada mencit sebagai imunostimulan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aldi, Y., Mimi, A., & Lusia, E. (2014). Uji efek imunostimulasi ekstrak etanol herba ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag pada mencit putih betina. *Scientia*, 4(1), 38-42.
- Anief, M. 2015. *Ilmu Meracik Obat*. Gadjah Mada University Press Anggota IKAPI.
- Anonim. (2011). *Identifikasi Bakteri Staphylococcus aureus dan Jamur Helminthosporium sp.* Laopran Koasistensi Mikrobiologi. Diakses pada tanggal 22 Januari 2021 dari <https://mulyadiveterinary.wordpress.com/2011/07/06/147/>
- Antari, A.L. 2017. *Imunologi Dasar*. Deepublish.
- Arrington, L.R. (1972). *Introductory Laboratory Animal Science, the breeding, Care and Management of Experimental Animal*. The Interstate Printers and Publisher, Inc: Denville.
- Baratawidjaja, K.G dan Rengganis, I. 2018. *Imunologi Dasar Edisi ke-12*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Halaman : 23,53,79,141,745,767.
- Barid, I. (2015). Struktur Populasi *Peronema canescens* Jack (Sungkai) Di Kawasan Wisata Air Terjun Bajuin Desa Sungkai Bakar Kecamatan Bajuin Kabupaten Tanah Laut Provinsi Kalimantan Selatan. *Skripsi*. Banjarmasin : Universitas Lambung Mangkurat.
- Brooks GF, Carrol KC, Butel J, Morse S, Jawets, Melnick and Adelberg'S. (2007). *Medical Microbiology Ed. 24* . McGraw Hill Companies : New York.
- Chairul, C., Pratiwi, P., & Chairul, S. M. (2009). Phagocytosis effectivity test of phenylbutenoid compounds isolated from bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) rhizome. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 10(1).
- Darmawan, R., Primairyani, A., & Yennita, Y. (2014). *Uji Aktivitas Antiplasmodium Ekstrak Daun Sungkai (Peronema Canescens) Terhadap Mencit Jantan (Mus Musculus) Serta Implementasinya Sebagai LKS Pada Materi Protista* (Doctoral dissertation, Universitas Bengkulu).
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Cetakan Pertama Indonesia. Halaman : 5, 9, 13, 30.
- Desmawati. (2013). *Sistem Hematologi dan Imunologi*. Jakarta : Penerbit In Media.
- Devagaran, T. (2012). Senyawa Immunomodulator Dari Tanaman. *Students e-Journal*, 1(1), 40.

- Dexa Medica Group. 2014. *Stimuno.Stimuno. Stimuno Forte*. Diakses pada tanggal 16 Januari 2021 dari <https://www.dexamedica.com/OTC/STIMUNO-Forte>.
- Estany, S., Palacio, J.R., Barnadas, R., Sabes, M, Iborra A, Martinez P. Antiooxidant activity of N-acetylcysteine, flavonoids and α -tocopherol on endometrial cells in culture. *J Repro Immun*. Elsevier.2007; 1-10.
- Francis, G., Zohar K., Harinder, P.S.M., dan Klaus B. 2002. The biological action of saponins in animal sistems.*British Journal of Nutrition*. 88: 587–605.
- Fransisca, D., Kahanjak, D. N., & Frethernety, A. (2020).Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan (Journal of Environmental Sustainability Management)*, 460-470.
- Heyne, K. (1987). Tumbuhan berguna indonesia. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan*, 2, 1188-1189.
- Hidayat, R. (2008). Penentuan Mutu Bibit Sungkai (*Peronema canescens*) Di Pembibitan Masyarakat Sekitar Taman Nasional Gunung Leuser Desa Halaban Kecamatan Besitang Kabupaten Langkat. *Skripsi*. Medan: Departemen Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatra Utara.
- Hill, LR. 1981. Taxonomy of the Staphylococc. *The Staphylococci: Proceedings of the Alexander Ongston Centennial Conference*.
- Jawetz, E, J.L Melnick, E.A Adelberg, G.F Brooks, J.S Butel, dan L.N Omston. (1995). *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke 20. Penerbit Buku Kedokteran EGC : Jakarta.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Jakarta : Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.2017. Halaman : 526-528, 531.
- Kusriani, R. H. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Kulit Batang Dan Daun Sungkai (*Peronema Canescens* Jack) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923 Dan *Escherichia Coli* ATCC 25922. *Jurnal Farmasi Galenika*, 2(01).
- Latief, M., Tarigan, I. L., Sari, P. M., & Aurora, F. E. (2021).Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Pada Mencit Putih Jantan. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1), 23-37.
- Lowy, FD. 1998. *Staphylococcus aureus* Infection. *The New England Journal of Medicine*, 339(8):520-32.
- Ningsih, A., & Subehan, M. N. D. (2013). Potensi Antimikroba dan Analisis

- Spektroskopi Isolat Aktif Ekstrak N-Heksan Daun Sungkai (*Peronema canescens*. Jack) Terhadap Beberapa Mikroba Uji. *Pascasarjana Program Studi Farmasi, Universitas Hasanudin. Makassar.*
- Nugroho, R.A. 2018. *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium*. Mulawaman Univercity Press. Samarinda.
- Plantamor.2008. *Plantamor Situs Dunia Tumbuhan, Informasi Spesies-Sungkai*.Diakses pada tanggal 23 Desember 2020dari <http://plantamor.com/species/info/peronema/canescens>.
- Prasiwi, D., Sundaryono, A., & Handayani, D. (2018).Aktivitas Fraksi Etanol Dari Ekstrak Daun *Peronema canescens* Terhadap Tingkat Pertumbuhan *Plasmodium berghei*. *Alotrop*, 2(1).
- Pro-Lab Diagnostics. 2012. *Mc Farland Standart. Standart Operating Procedur*. Pro-Lab Diagnostics : USA.
- Ramadenti, F., Sundaryono, A., Handayani, D. 2017.Uji Fraksi Etil Asetat Daun *Peronema canescens* Terhadap *Plasmodium berghei* Pada *Mus musculus*.*Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia, Universitas Bengkulu*. 2017: 1 (2) : 89- 92.
- Roit, I., Brostoff, J., dan Male, D. (1989). *Imunology. Edisi Kedua*. London: Gower Medical Publishing. Halaman 1-10.
- Suwandi, J. F. (2007). Aktivitas Antiplasmodium Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canencens*). *Kajian Aktivitas Antiplasmodium In Vitro dan In Vivo, Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Hem dan Aktivitas Sitotoksik Terhadap Sel Vero*.
- Thompson, E. . 1990. *Bioscreening of Drug, Evaluation Technique & Pharmacology*. New York: Weinheim Bussel Cambridge.
- Wagner, H. 1999. *Immunomodulatory Agents from Plants*. Berlin: Birkhauser Verlag. Hal. 15.
- Winkel-Shirley, B. 2001. Flavonoid Biosynthesis: A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. *Journal of Plant Physiology* Vol. 126, 2, 485-493 (<http://www.plantphysiol.org/content/126/2/485.full>, diakses tanggal 26 Februari 2014).
- Yani, A. P. (2013). Kearifan Lokal Penggunaan Tumbuhan Obat Oleh Suku Lembak Delapan Di Kabupaten Bengkulu Tengah, Bengkulu. *Prosiding SEMIRATA 2013*, 1(1).
- Yusrin, H. (2008). Studi Etnobotani Pemanfaatan Jenis-Jenis Tumbuhan di Pekarangan Sebagai Obat Tradisional oleh Suku Serawai di Desa Kembang Seri Kecamatan Talo Kabupaten Seluma. *FKIP UNIB. Bengkulu*, 36(2), 37.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambar Penelitian



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;
herbariumandaunand@gmail.com

Nomor : 128/K-ID/ANDA/III/2021
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
Theresa Rezeki
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 : Theresa Rezeki
No. BP : 1704035
Instansi : Universitas Perintis Indonesia

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

No	Family	Spesies
1.	Lamiaceae	<i>Peronema canescens</i> Jack

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.



Padang, 22 Maret 2021

Kepala,

Dr. Nurainas

NIP. 196908141995122001

Gambar 3. Surat hasil identifikasi tumbuhan sungkai

Lampiran 1. (lanjutan)



Nomor : 122/KEPK.F2/ETIK/2021

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kesehatan Universitas Perintis Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subjek penelitian kedokteran, kesehatan, dan kefarmasian, telah mengkaji dengan teliti protocol berjudul:

The Ethics Committee of Universitas Perintis Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical, health and pharmacies research, has carefully reviewed the research protocol entitled:

“Uji Efek Imunostimulan Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema Canescens* Jack) Terhadap Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritoneum Pada Mencit”.

No. protocol : 21-07-155

Peneliti Utama : THERESA REZEKI
Principal Investigator

Nama Institusi : Fakultas Farmasi, Universitas Perintis Indonesia
Name of The Institution

dan telah menyetujui protocol tersebut diatas.
and approved the above mentioned protocol.

Padang, 19 Juli 2021

Def Primal, M.Biomed, PA
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA

**Ethical approval* berlaku satu (1) tahun dari tanggal persetujuan.

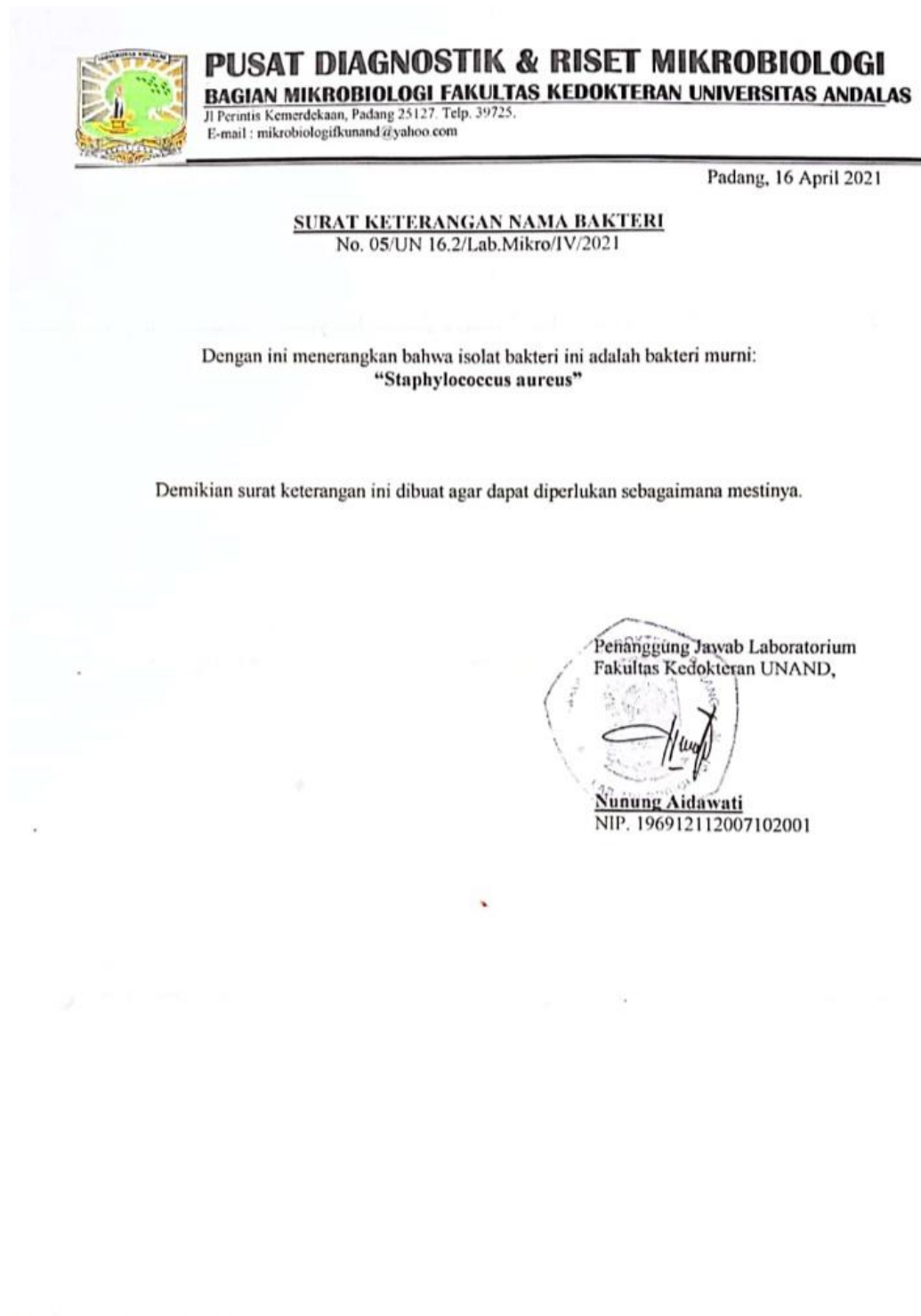
**Peneliti berkewajiban:

1. Menjaga kerahasiaan identitas subjek penelitian.
2. Memberitahukan status penelitian apabila.
 - a. Selama masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical approval* harus diperpanjang.
 - b. Penelitian berhenti ditengah jalan.
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*).
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subjek sebelum protocol penelitian mendapat lolos kaji etik dan sebelum memperoleh informed consent dari subjek penelitian.
5. Menyampaikan laporan akhir, bila penelitian sudah selesai.
6. Cantumkan nomor protocol ID pada setiap komunikasi dengan Lembaga KEPK Universitas Perintis Indonesia.

Semua prosedur persetujuan etik penelitian dilakukan sesuai dengan standar CIOMS-WHO 2016.
 All procedure of *Ethical Approval* are performed in accordance with CIOMS-WHO 2016 standard procedure.

Gambar 4. Surat keterangan lolos kaji etik

Lampiran 1. (lanjutan)



Gambar 5. Surat hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

Lampiran 1. (lanjutan)



Gambar 6. Daun tumbuhan sungkai
(*Peronema canescens* Jack)



Gambar 7. Simplisia daun sungkai
(*Peronema canescens* Jack)

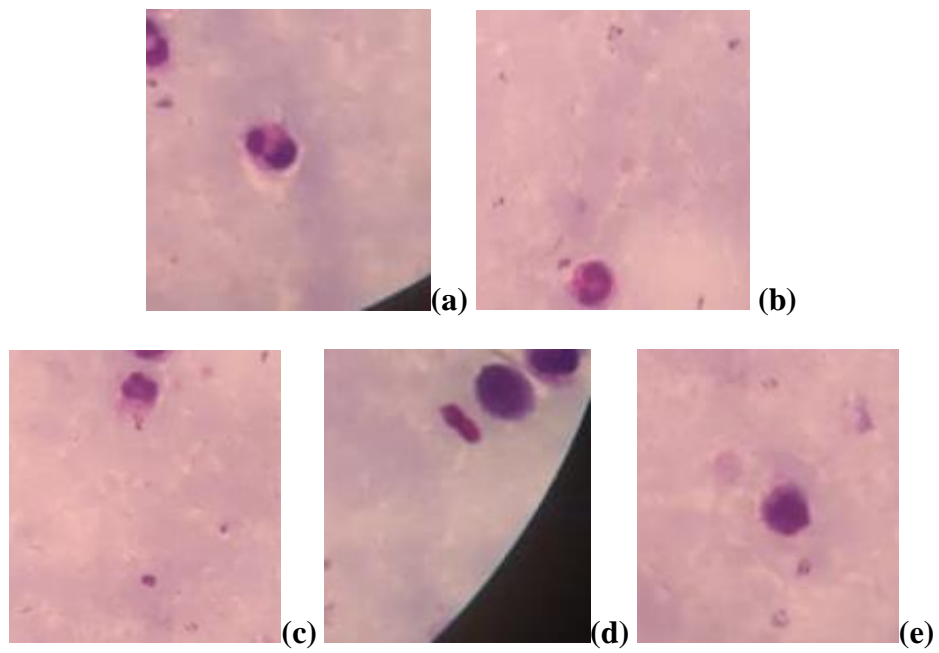


Gambar 8. Serbuk simplisia daun
sungkai (*Peronema canescens* Jack)



Gambar 9. Ekstrak etanol daun
sungkai (*Peronema canescens* Jack)

Lampiran 1. (lanjutan)

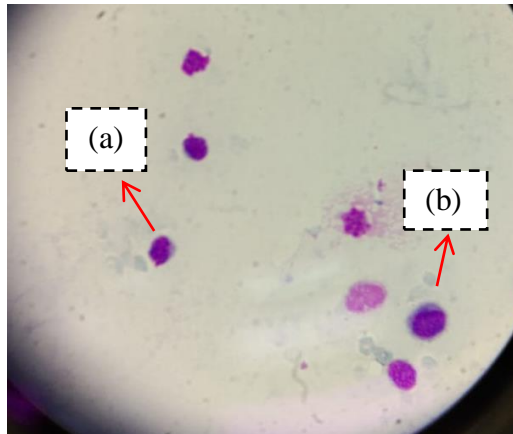


Keterangan :

- (a). Eusinofil
- (b). Neutrofil Batang
- (c). Neutrofil Segmen
- (d). Limfosit
- (e). Monosit

Gambar 10. Jenis-jenis sel leukosit pada perbesaran 1000x

Lampiran 1. (lanjutan)



Keterangan :

(a). Sel makrofag aktif

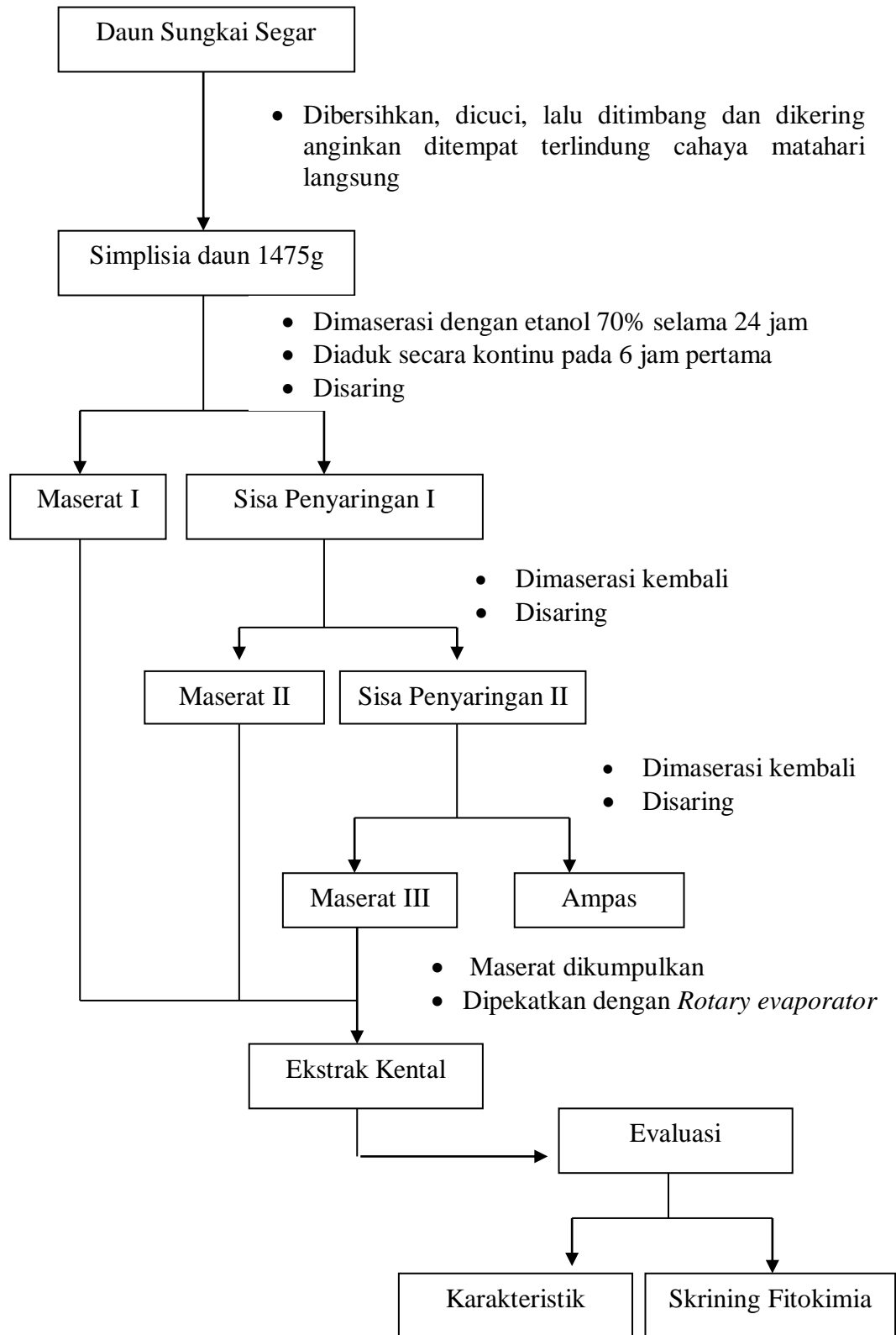
(b). Sel makrofag tidak aktif

Gambar 11. Fagositosis sel makrofag peritoneum pada perbesaran 1000x



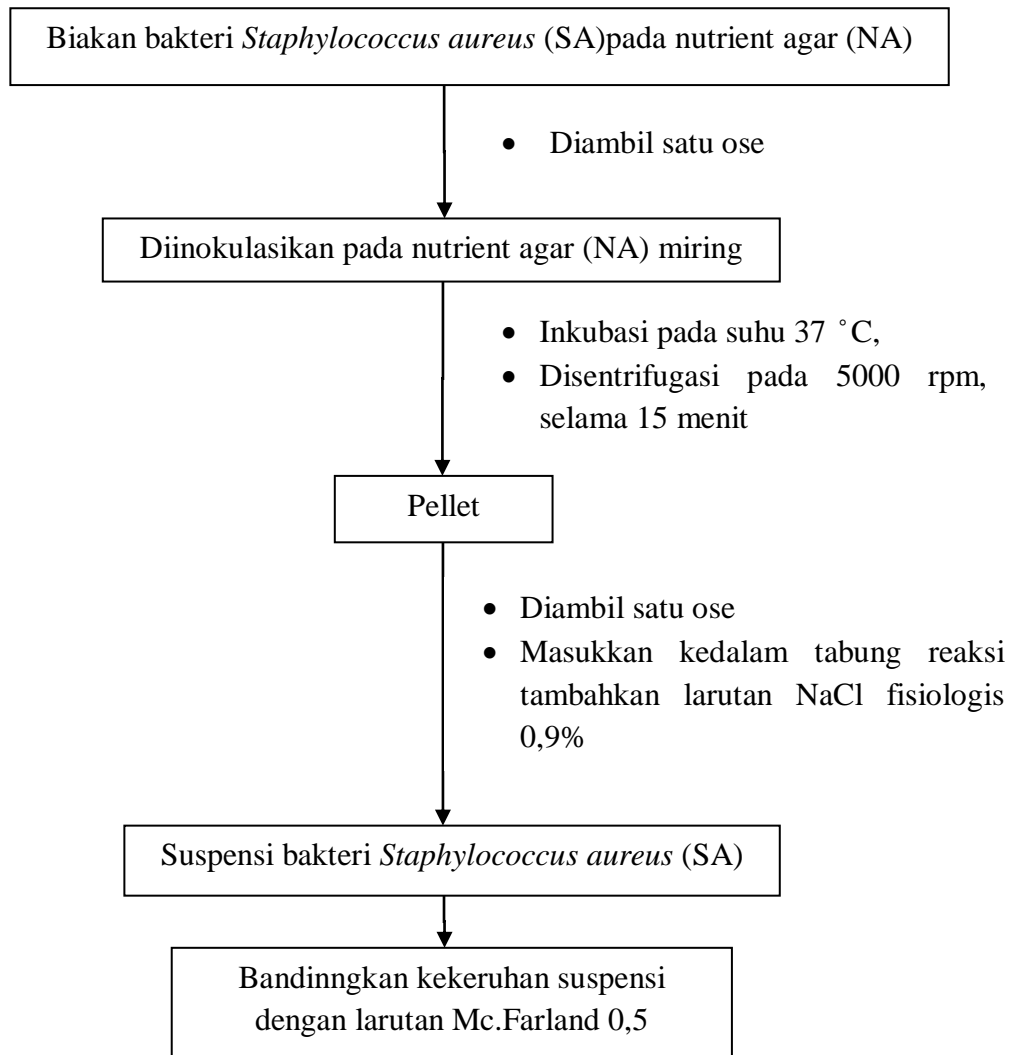
Gambar 12. Limfa menci

Lampiran 2. Skema Prosedur Kerja



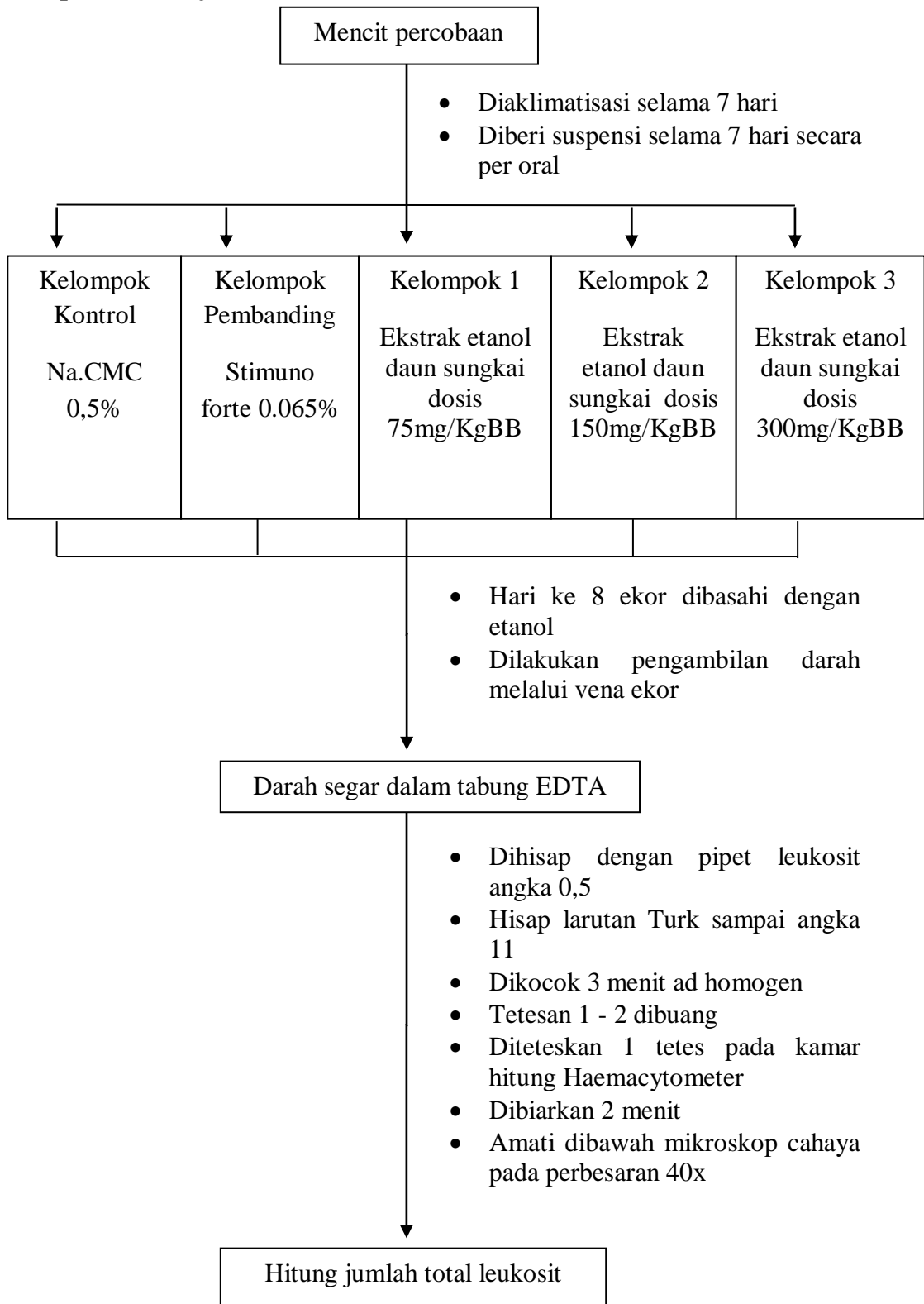
Skema 1. Prosedur kerja ekstraksi dan evaluasi ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack)

Lampiran 2. (lanjutan)



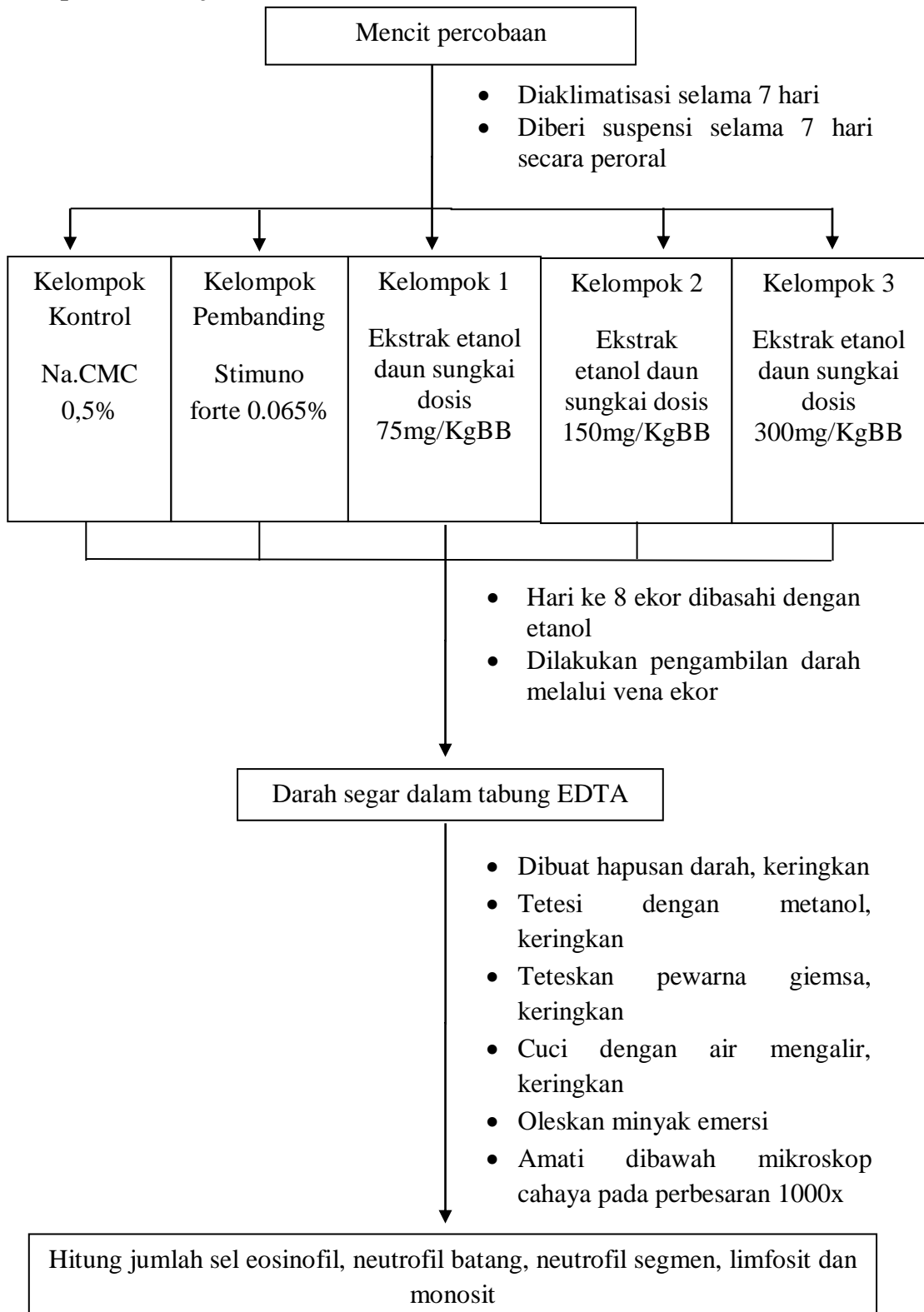
Skema 2. Prosedur kerja pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*

Lampiran 2. (lanjutan)



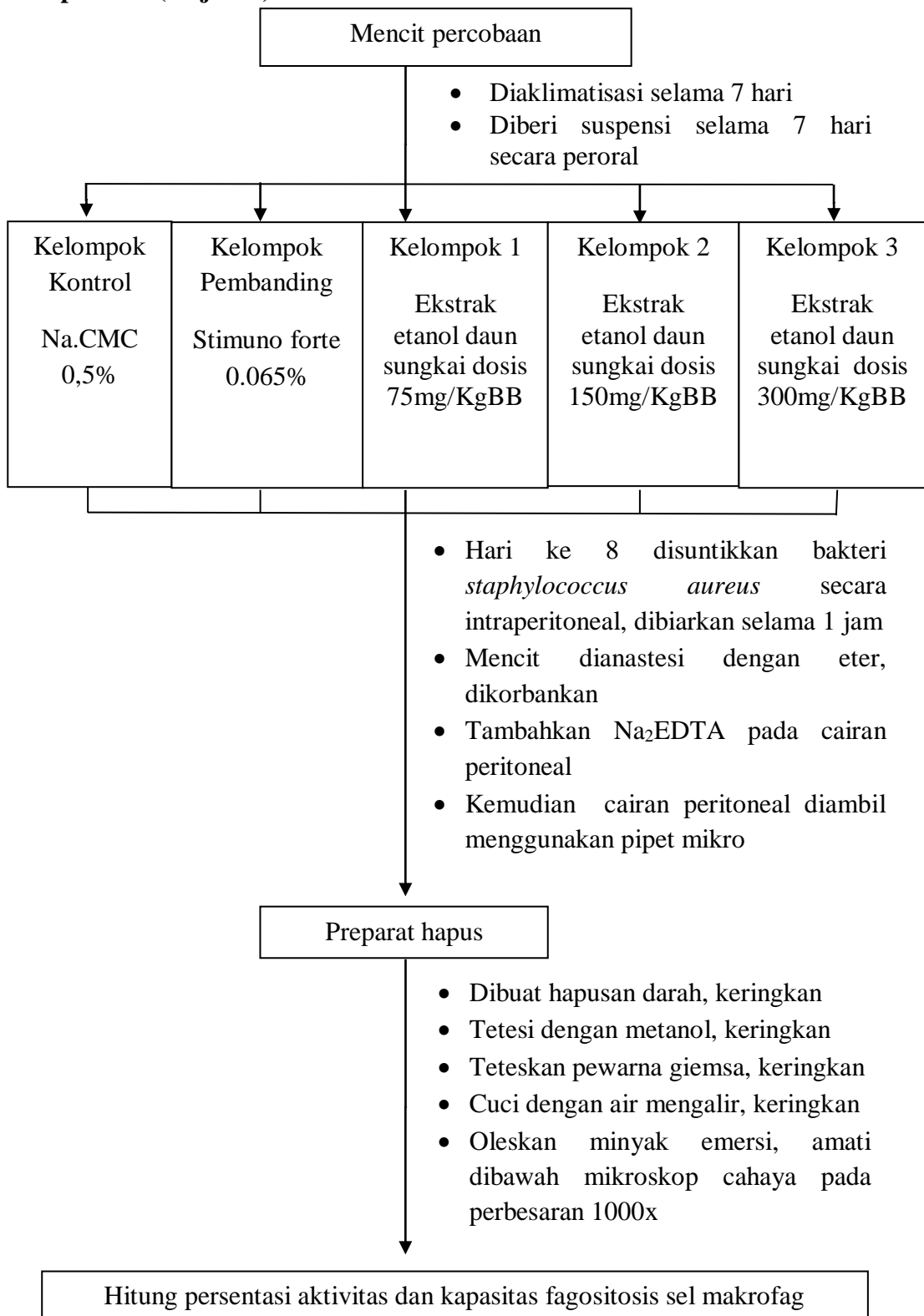
Skema 3. Prosedur kerja penentuan jumlah total sel leukosit dengan Haemacytometer

Lampiran 2. (lanjutan)



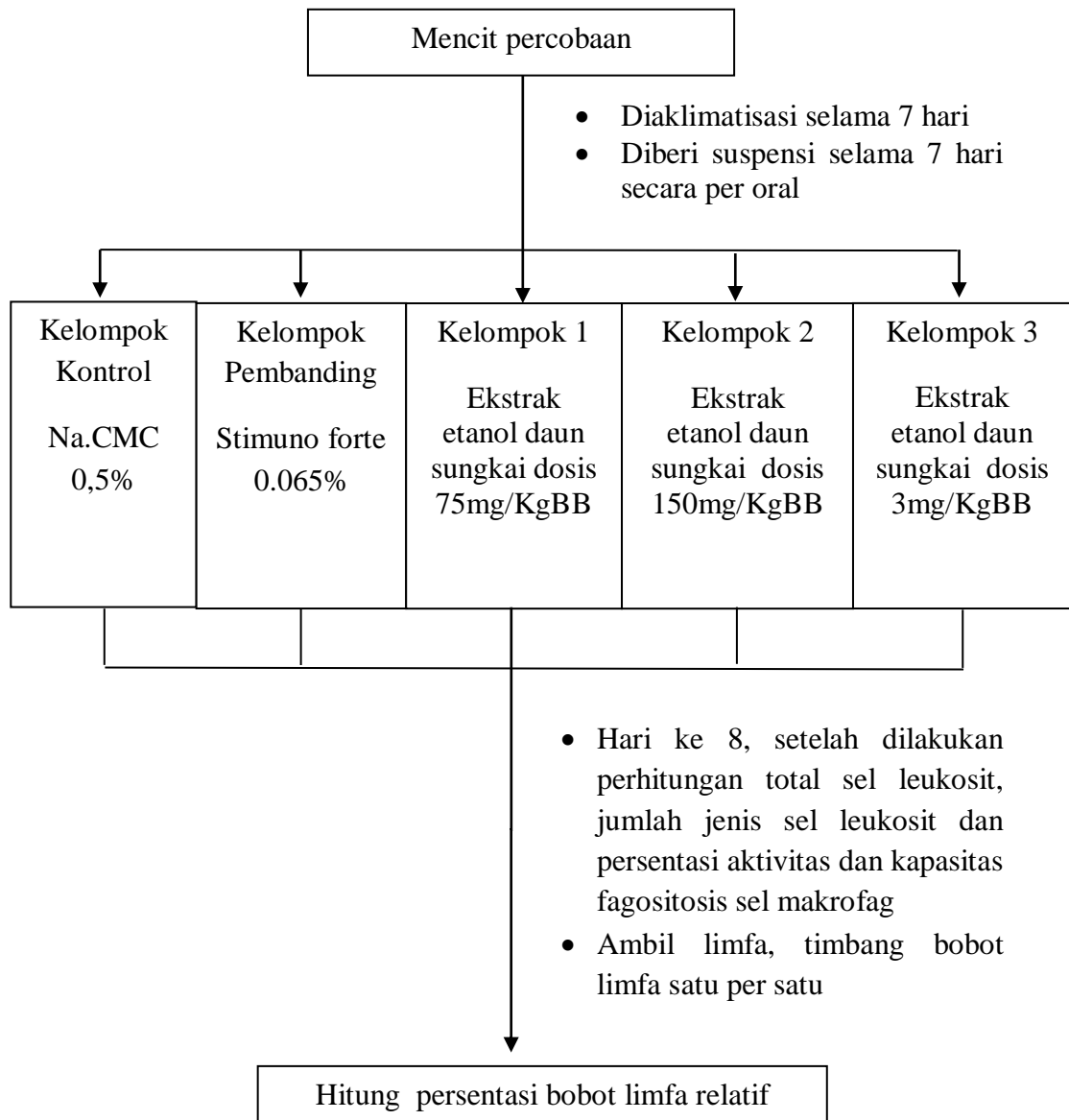
Skema 4. Prosedur kerja penentuan jumlah jenis sel leukosit dengan metode hapusan darah

Lampiran 2. (lanjutan)



Skema 5. Prosedur kerja penentuan persentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum

Lampiran 2. (lanjutan)



Skema 6. Prosedur kerja penentuan persentasi bobot limfa relatif

Lampiran 3. Evaluasi Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack)

Tabel 1. Hasil penetapan rendemen

Berat sampel segar	Berat simplisia	Berat ekstrak kental	Rendemen (%)	
			Basah	Kering
5000g	1475g	179,41g	3,58%	12,16%

Perhitungan rendemen :

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen Basah} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat sampel segar}} \times 100\% \\ &= \frac{179,41\text{g}}{5000\text{g}} \times 100\% \\ &= 3,58\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen Kering} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{179,41\text{g}}{1475\text{g}} \times 100\% \\ &= 12,16\% \end{aligned}$$

Tabel 2. Hasil pemeriksaan karakteristik

No	Pemeriksaan karakteristik	Hasil pengamatan
1.	Organoleptis <ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Warna • Bau • Rasa 	<ul style="list-style-type: none"> • Cairan kental • Hijau kehitaman • Khas sungkai • Pahit
2.	Kelarutan <ul style="list-style-type: none"> • Dalam air • Dalam etanol 96% 	<ul style="list-style-type: none"> • Agak sukar larut(1: 31) • Larut (1 : 12)
3.	Ph	<ul style="list-style-type: none"> • 4,77

Lampiran 3. (lanjutan)

Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan

A	B	C	Susut pengeringan (%)	Standar Umum
36,5615g	37,5816g	37,4892g	9,05%	15%

Perhitungan susut pengeringan :

$$\begin{aligned}\% \text{ Susut pengeringan} &= \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100\% \\ &= \frac{(37,5816g - 36,5615g) - (37,4892g - 36,5615g)}{(37,5816g - 36,5615g)} \times 100\% \\ &= \frac{1,0201 - 0,9277}{1,0201} \times 100\% \\ &= \frac{0,0924}{1,0201} \times 100\% \\ &= 9,05\%\end{aligned}$$

Tabel 4. Hasil penetapan kadar abu

A	B	C	Kadar Abu (%)	Standar Umum
36,5615g	38,5665g	36,6415g	3,99%	10%

Perhitungan kadar abu ekstrak :

$$\begin{aligned}\% \text{ Kadar abu} &= \frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100\% \\ &= \frac{(36,6415g - 36,5615g)}{(38,5665g - 36,5615g)} \times 100\% \\ &= \frac{0,08}{2,005} \times 100\% \\ &= 3,99\%\end{aligned}$$

Lampiran 3. (lanjutan)

Tabel 5. Hasil skrining fitokimia

No	Senyawa kimia	Pereaksi	Hasil pengamatan	Kesimpulan
1.	Alkaloid	Lapisan kloroform + kloroform amoniak + H ₂ SO ₄ 2N + Mayer	Kabut putih	(+)
2.	Flavonoid	Lapisan air + serbuk Mg + HCl (p)	Larutan merah	(+)
3.	Fenolik	Lapisan air + FeCl ₃	Larutan biru	(+)
4.	Saponin	Lapisan air dikocok	Tidak terbentuk busa	(-)
5.	Steroid/Terpenoid	Lapisan kloroform + norit + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ (p)	Larutan biru kemudian menjadi merah	(+/-)

Lampiran 4. Perhitungan Konsentrasi Dosis

Tabel 6. Konversi perhitungan dosis (Laurance& Bacharach,1964)

	Mencit 20 gr	Tikus 200 gr	Marmot 400 gr	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 gr	1.0	7.0	12.25	27.8	29.7	64.1	124.2	387.9
Tikus 200 gr	0.14	1.0	1.74	3.9	4.2	9.2	17.8	56.0
Marmot 400 gr	0.08	0.57	1.0	2.25	2.4	5.2	10.2	31.5
Kelinci 1,5 kg	0.04	0.25	0.44	1.0	1.08	2.4	4.5	14.2
Kucing 2 kg	0.03	0.23	0.41	0.92	1.0	2.2	4.1	13.0
Kera 4 kg	0.016	0.11	0.19	0.42	0.45	1.0	1.9	6.1
Anjing 12 kg	0.008	0.06	0.1	0.22	0.24	0.52	1.0	3.1
Manusia 70 kg	0.0026	0.018	0.031	0.07	0.076	0.16	0.32	1.0

Lampiran 4. (lanjutan)

Perhitungan konsentrasi dosis :

Berat badan mencit normal = 20g

Volume administrasi obat (VAO) = 1% x Berat Badan (BB)

$$\begin{aligned} &= \frac{1}{100} \times 20\text{g} \\ &= 0,2\text{mL} \end{aligned}$$

$$\% \text{ Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis (mg/KgBB)} \times \text{Berat Badan (g)}}{\text{VAO}}$$

- Kelompok kontrol

$$\% \text{ Konsentrasi} = \frac{\frac{50 \text{ mg}}{1000\text{g}} \times 20\text{g}}{0,2\text{mL}}$$

$$= \frac{5\text{mg}}{\text{mL}}$$

$$= \frac{500\text{mg}}{100\text{mL}}$$

$$= \frac{0,5\text{g}}{100\text{mL}}$$

$$= 0,5\%$$

- Kelompok pembanding

Dosis manusia = 50mg

Konversi untuk mencit 20g = 50mg x 0,0026

$$= 0,13\text{mg}/20\text{g}$$

$$\% \text{ Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis}}{\text{VAO}}$$

$$= \frac{0,13\text{mg}}{0,2\text{mL}}$$

Lampiran 4. (lanjutan)

$$\begin{aligned} &= \frac{0,065\text{mg}}{\text{mL}} \times \frac{100}{100} \\ &= \frac{65\text{mg}}{100\text{mL}} \\ &= \frac{0,065\text{g}}{100\text{mL}} \\ &= 0,065\% \end{aligned}$$

- Kelompok 1

$$\begin{aligned} \% \text{ Konsentrasi} &= \frac{\frac{75 \text{ mg}}{1000\text{g}} \times 20\text{g}}{0,2\text{mL}} \\ &= \frac{7,5\text{mg}}{\text{mL}} \\ &= \frac{750\text{mg}}{100\text{mL}} \\ &= \frac{0,75\text{g}}{100\text{mL}} \\ &= 0,75\% \end{aligned}$$

- Kelompok 2

$$\begin{aligned} \% \text{ Konsentrasi} &= \frac{\frac{150 \text{ mg}}{1000\text{g}} \times 20\text{g}}{0,2\text{mL}} \\ &= \frac{15\text{mg}}{\text{mL}} \\ &= \frac{1500\text{mg}}{100\text{mL}} \\ &= \frac{1,5\text{g}}{100\text{mL}} \\ &= 1,5\% \end{aligned}$$

Lampiran 4. (lanjutan)

- Kelompok 3

$$\% \text{ Konsentrasi} = \frac{\frac{300 \text{ mg}}{1000\text{g}} \times 20\text{g}}{0,2\text{mL}}$$

$$= \frac{30\text{mg}}{\text{mL}}$$

$$= \frac{3000\text{mg}}{100\text{mL}}$$

$$= \frac{3\text{g}}{100\text{mL}}$$

$$= 3\%$$

**Lampiran 5. Hasil Uji Efek Immunostimulan Ekstrak Etanol Daun Sungkai
(*Peronema canescens* Jack)**

Tabel 7. Hasil perhitungan total sel leukosit

Kelompok Perlakuan	No	Jumlah total (μL)
Kelompok Kontrol	1.	6050
	2.	7100
	3.	7700
	4.	6000
	5.	6600
	X \pm SD	6690 \pm 721,456
Kelompok Pembanding	1.	7500
	2.	7600
	3.	6250
	4.	6250
	5.	6200
	X \pm SD	6760 \pm 722,322
Kelompok 1	1.	7850
	2.	7900
	3.	8000
	4.	7000
	5.	7300
	X \pm SD	7610 \pm 436,463
Kelompok 2	1.	8350
	2.	8700
	3.	8750
	4.	8350
	5.	8600
	X \pm SD	8550 \pm 190,394
Kelompok 3	1.	9800
	2.	9750
	3.	9950
	4.	10900
	5.	10100
	X \pm SD	10100 \pm 467,707

Lampiran 5. (lanjutan)

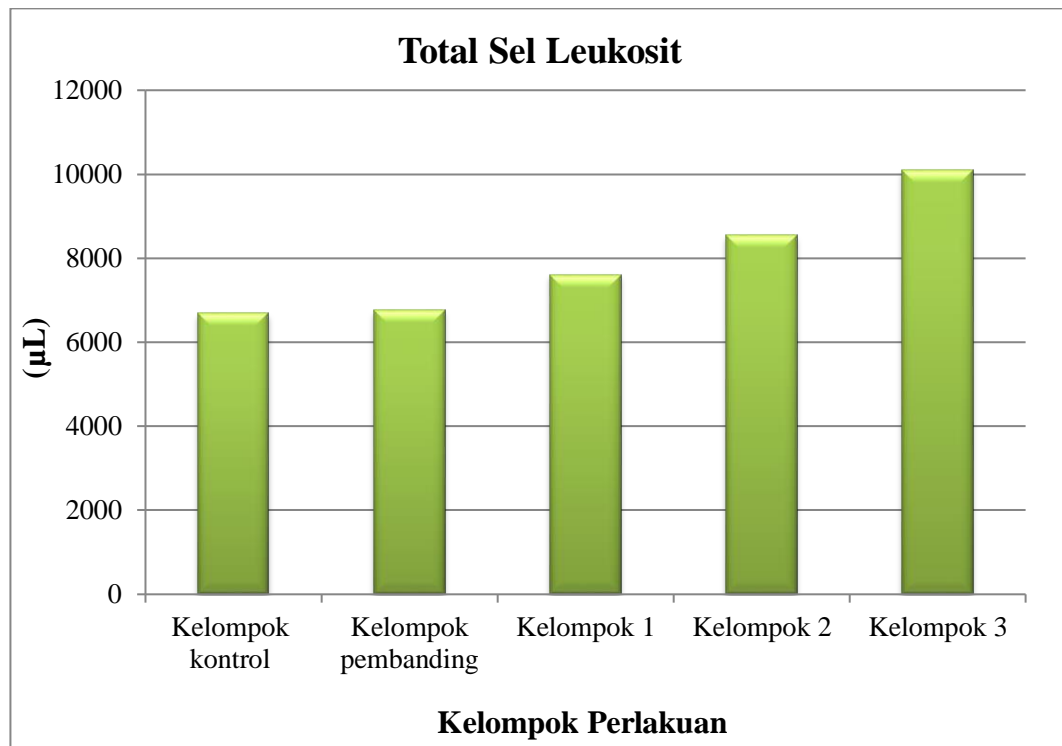


Diagram 1. Diagram batang rata-rata total sel leukosit dengan Haemcytometer

Lampiran 5. (lanjutan)

Tabel 8. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan dari total sel leukosit

Descriptives

Total Sel Leukosit								
Kelompok Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kelompok kontrol	5	6.6900	721.45686	3.22645	5794.1930	7585.8070	6000.00	7700.00
Kelompok pembanding	5	6.7600	722.32264	3.23033	5863.1180	7656.8820	6200.00	7600.00
Kelompok 1	5	7.6100	436.46306	1.95192	7068.0595	8151.9405	7000.00	8000.00
Kelompok 2	5	8.5500	190.39433	85.14693	8313.5942	8786.4058	8350.00	8750.00
Kelompok 3	5	10.100	467.70717	2.09165	9519.2648	10680.7352	9750.00	10900.00
Total	25	7.9420	1391.31832	2.78264	7367.6920	8516.3080	6000.00	10900.00

ANOVA

Total Sel Leukosit					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.051	4	1.013s	34.034	.000
Within Groups	5951000.000	20	297550.000		
Total	4.646	24			

Total Sel Leukosit

Duncan					
Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kelompok kontrol	5	6.6900			
Kelompok pembanding	5	6.7600			
Kelompok 1	5		7.6100		
Kelompok 2	5			8.5500	
Kelompok 3	5				10.100
Sig.		.841	1.000	1.000	1.000

Lampiran 5.(lanjutan)

Tabel 9. Hasil perhitungan jumlah jenis sel leukosit

Kelompok Perlakuan	No	Jenis Sel Leukosit				
		Eusinofil	Neutrofil Batang	Neutrofil Segmen	Limfosit	Monosit
Kelompok kontrol	1.	0,00	1,00	37,00	27,00	25,00
	2.	0,00	0,00	47,00	22,00	18,00
	3.	0,00	5,00	75,00	20,00	14,00
	4.	1,00	1,00	26,00	28,00	12,00
	5.	0,00	0,00	36,00	25,00	10,00
	X ± SD	0,20±0,447	1,40±2,073	44,20±18,753	24,40±3,361	15,80±5,932
Kelompok pembanding	1.	2,00	2,00	49,00	34,00	14
	2.	1,00	2,00	33,00	26,00	12
	3.	1,00	3,00	57,00	22,00	15
	4.	0,00	1,00	31,00	21,00	12
	5.	2,00	1,00	65,00	25,00	10
	X ± SD	1,20±0,836	1,80±0,836	47,00±14,832	25,60±5,128	12,60±1,949
Kelompok 1	1.	1,00	9,00	56,00	35,00	4,00
	2.	1,00	5,00	62,00	31,00	12,00
	3.	4,00	5,00	65,00	18,000	8,00
	4.	2,00	3,00	56,00	60,00	12,00
	5.	0,00	2,00	65,00	54,00	10,00
	X ± SD	1,60±1,516	4,80±2,683	60,80±4,549	39,60±17,213	9,20±3,346
Kelompok 2	1.	0,00	3,00	66,00	44,00	4,00
	2.	3,00	4,00	67,00	55,00	6,00
	3.	3,00	7,00	72,00	30,00	7,00
	4.	2,00	8,00	55,00	55,00	3,00
	5.	1,00	7,00	54,00	25,00	8,00
	X ± SD	1,80±1,303	5,80±2,167	62,80±7,918	41,80±13,917	5,60±2,073
Kelompok 3	1.	2,00	9,00	54,00	39,00	5,00
	2.	2,00	8,00	66,00	42,00	6,00
	3.	2,00	6,00	70,00	37,00	2,00
	4.	1,00	6,00	71,00	44,00	5,00
	5.	3,00	9,00	54,00	48,00	8,00
	X ± SD	2,00±0,707	7,60±1,516	63,00±8,426	42,00±4,301	5,20±2,167

Lampiran 5.(lanjutan)

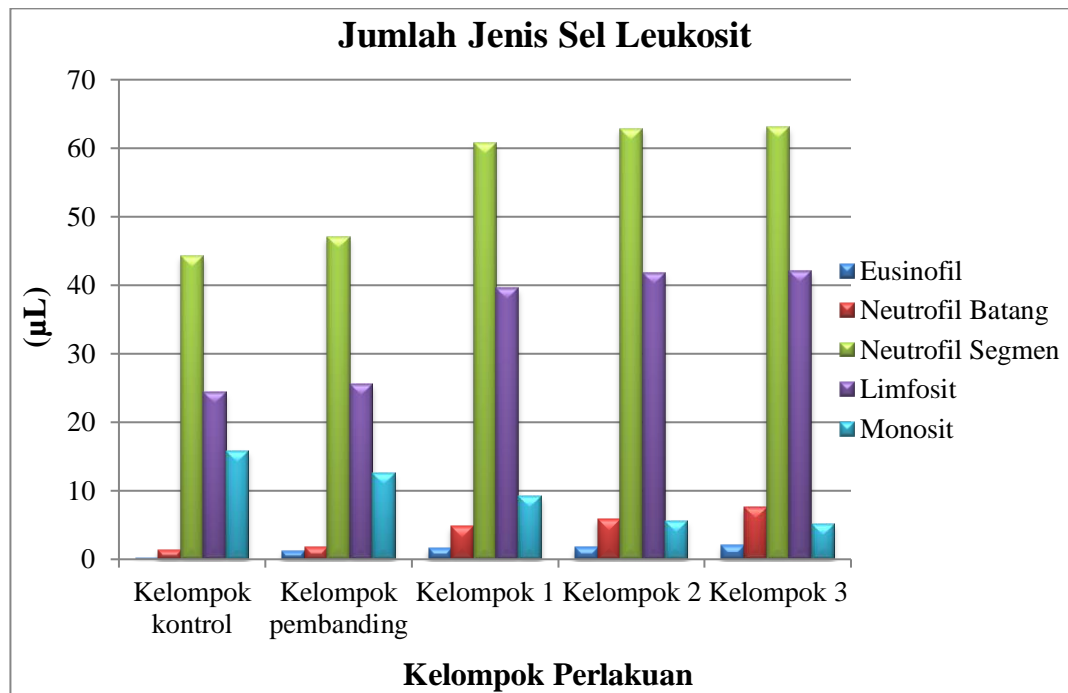


Diagram 2. Diagram batang rata-rata jumlah jenis sel leukosit dengan metode hapusan darah

Lampiran 5.(lanjutan)

Tabel 10. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan dari jumlah eusinofil

Descriptives								
Eusinofil								
Kelompok Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kelompok kontrol	5	.2000	.44721	.20000	-.3553	.7553	.00	1.00
Kelompok pembanding	5	1.2000	.83666	.37417	.1611	2.2389	.00	2.00
Kelompok 1	5	1.6000	1.51658	.67823	-.2831	3.4831	.00	4.00
Kelompok 2	5	1.8000	1.30384	.58310	.1811	3.4189	.00	3.00
Kelompok 3	5	2.0000	.70711	.31623	1.1220	2.8780	1.00	3.00
Total	25	1.3600	1.15036	.23007	.8852	1.8348	.00	4.00

ANOVA					
Eusinofil					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.160	4	2.540	2.352	.089
Within Groups	21.600	20	1.080		
Total	31.760	24			

Eusinofil			
Duncan			
Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kelompok kontrol	5	.2000	
Kelompok pembanding	5	1.2000	1.2000
Kelompok 1	5	1.6000	1.6000
Kelompok 2	5		1.8000
Kelompok 3	5		2.0000
Sig.		.056	.278

Lampiran 5.(lanjutan)

Tabel 11. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan dari jumlah neutrofil batang

Descriptives

Neutrofil Batang								
Kelompok Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kelompok kontrol	5	1.4000	2.07364	.92736	-1.1748	3.9748	.00	5.00
Kelompok pembanding	5	1.8000	.83666	.37417	.7611	2.8389	1.00	3.00
Kelompok 1	5	4.8000	2.68328	1.20000	1.4683	8.1317	2.00	9.00
Kelompok 2	5	5.8000	2.16795	.96954	3.1081	8.4919	3.00	8.00
Kelompok 3	5	7.6000	1.51658	.67823	5.7169	9.4831	6.00	9.00
Total	25	4.2800	3.00721	.60144	3.0387	5.5213	.00	9.00

ANOVA

Neutrofil Batang					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	140.240	4	35.060	9.130	.000
Within Groups	76.800	20	3.840		
Total	217.040	24			

Neutrofil Batang

Duncan				
Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kelompok kontrol	5	1.4000		
Kelompok pembanding	5	1.8000		
Kelompok 1	5		4.8000	
Kelompok 2	5		5.8000	5.8000
Kelompok 3	5			7.6000
Sig.		.750	.429	.162

Lampiran 5.(lanjutan)

Tabel 12. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan dari jumlah neutrofil segmen

Descriptives								
Neutrofil Segmen								
Kelompok Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kelompok kontrol	5	44.2000	18.75367	8.38689	20.9142	67.4858	26.00	75.00
Kelompok pembanding	5	47.0000	14.83240	6.63325	28.5831	65.4169	31.00	65.00
Kelompok 1	5	60.8000	4.54973	2.03470	55.1508	66.4492	56.00	65.00
Kelompok 2	5	62.8000	7.91833	3.54119	52.9681	72.6319	54.00	72.00
Kelompok 3	5	63.0000	8.42615	3.76829	52.5376	73.4624	54.00	71.00
Total	25	55.5600	13.83257	2.76651	49.8502	61.2698	26.00	75.00

ANOVA					
Neutrofil Segmen					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1687.760	4	421.940	2.906	.048
Within Groups	2904.400	20	145.220		
Total	4592.160	24			

Neutrofil Segmen			
Duncan			
Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kelompok kontrol	5	44.2000	
Kelompok pembanding	5	47.0000	47.0000
Kelompok 1	5	60.8000	60.8000
Kelompok 2	5		62.8000
Kelompok 3	5		63.0000
Sig.		.051	.067

Lampiran 5.(lanjutan)

Tabel 13. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan dari jumlah limfosit

Descriptives

Limfosit								
Kelompok Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kelompok kontrol	5	24.4000	3.36155	1.50333	20.2261	28.5739	20.00	28.00
Kelompok pembanding	5	25.6000	5.12835	2.29347	19.2323	31.9677	21.00	34.00
Kelompok 1	5	39.6000	17.21337	7.69805	18.2268	60.9732	18.00	60.00
Kelompok 2	5	41.8000	13.91761	6.22415	24.5190	59.0810	25.00	55.00
Kelompok 3	5	42.0000	4.30116	1.92354	36.6594	47.3406	37.00	48.00
Total	25	34.6800	12.52903	2.50581	29.5083	39.8517	18.00	60.00

ANOVA

Limfosit					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1583.040	4	395.760	3.624	.022
Within Groups	2184.400	20	109.220		
Total	3767.440	24			

Limfosit

Duncan			
Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kelompok kontrol	5	24.4000	
Kelompok pembanding	5	25.6000	
Kelompok 1	5		39.6000
Kelompok 2	5		41.8000
Kelompok 3	5		42.0000
Sig.		.858	.736

Lampiran 5.(lanjutan)

Tabel 14. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan dari jumlah monosit

Descriptives

Monosit								
Kelompok Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kelompok kontrol	5	15.8000	5.93296	2.65330	8.4333	23.1667	10.00	25.00
Kelompok pembanding	5	12.6000	1.94936	.87178	10.1796	15.0204	10.00	15.00
Kelompok 1	5	9.2000	3.34664	1.49666	5.0446	13.3554	4.00	12.00
Kelompok 2	5	5.6000	2.07364	.92736	3.0252	8.1748	3.00	8.00
Kelompok 3	5	5.2000	2.16795	.96954	2.5081	7.8919	2.00	8.00
Total	25	9.6800	5.20993	1.04199	7.5294	11.8306	2.00	25.00

ANOVA

Monosit					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	414.640	4	103.660	8.755	.000
Within Groups	236.800	20	11.840		
Total	651.440	24			

Monosit

Duncan				
Kelompok_Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kelompok 3	5	5.2000		
Kelompok 2	5	5.6000		
Kelompok 1	5	9.2000	9.2000	
Kelompok pembanding	5		12.6000	12.6000
Kelompok kontrol	5			15.8000
Sig.		.096	.134	.157

Lampiran 5.(lanjutan)

Tabel 15. Hasil perhitungan persentasi aktivitas fagositosis sel makrofag peritoneum

Kelompok Perlakuan	No	Aktivitas (%)
Kelompok kontrol	1.	10
	2.	13
	3.	19
	4.	16
	5.	12
	X± SD	14±3.535
Kelompok pembanding	1.	22
	2.	23
	3.	24
	4.	33
	5.	31
	X± SD	24,6±5,029
Kelompok 1	1.	35
	2.	27
	3.	26
	4.	37
	5.	30
	X± SD	31±4,847
Kelompok 2	1.	42
	2.	46
	3.	39
	4.	48
	5.	20
	X± SD	39±11,180
Kelompok 3	1.	47
	2.	45
	3.	43
	4.	38
	5.	32
	X ± SD	41±6,041

Lampiran 5. (lanjutan)

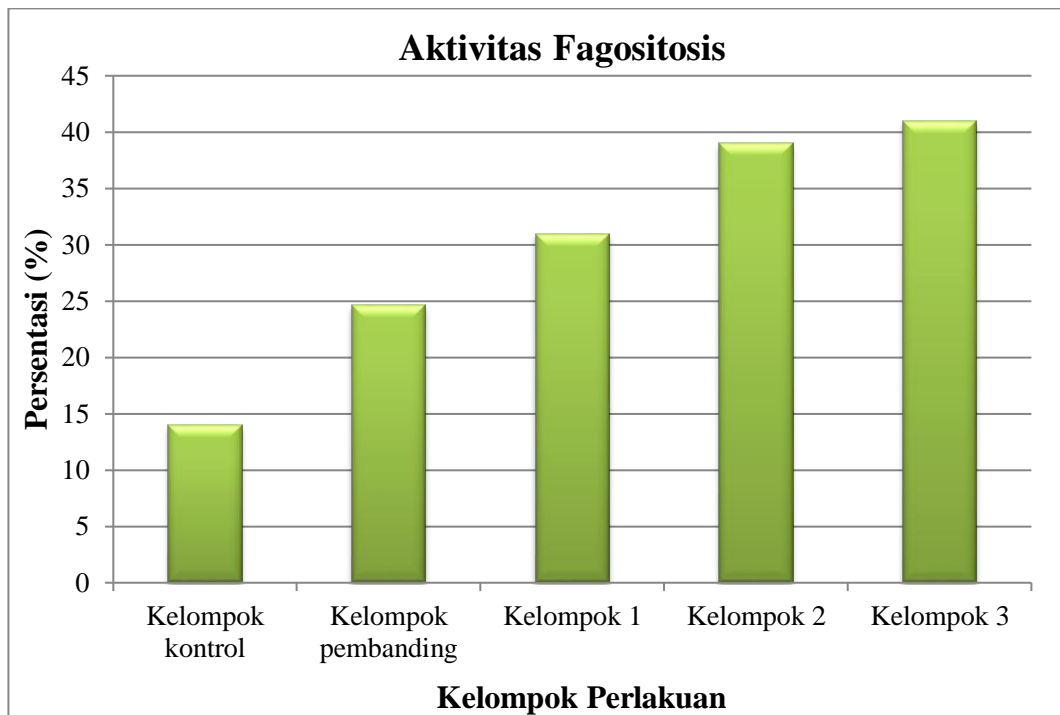


Diagram 3. Diagram batang persentasi aktivitas sel makrofag peritoneum

Lampiran 5. (lanjutan)

Tabel 16. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan dari persentasi aktivitas fagositosis sel makrofag peritoneum

Descriptives

Aktivitas Fagositosis Sel Leukosit								
Kelompok Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kelompok kontrol	5	14.0000	3.53553	1.58114	9.6101	18.3899	10.00	19.00
Kelompok pembanding	5	26.6000	5.02991	2.24944	20.3545	32.8455	22.00	33.00
Kelompok 1	5	31.0000	4.84768	2.16795	24.9808	37.0192	26.00	37.00
Kelompok 2	5	39.0000	11.18034	5.00000	25.1178	52.8822	20.00	48.00
Kelompok 3	5	41.0000	6.04152	2.70185	33.4985	48.5015	32.00	47.00
Total	25	30.3200	11.62153	2.32431	25.5229	35.1171	10.00	48.00

ANOVA

Aktivitas Fagositosis Sel Leukosit					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2350.240	4	587.560	13.186	.000
Within Groups	891.200	20	44.560		
Total	3241.440	24			

Aktivitas Fagositosis Sel Leukosit

Duncan					
Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kelompok kontrol	5	14.0000			
Kelompok pembanding	5		26.6000		
Kelompok 1	5		31.0000	31.0000	
Kelompok 2	5			39.0000	39.0000
Kelompok 3	5				41.0000
Sig.		1.000	.310	.073	.641

Lampiran 5. (lanjutan)

Tabel 17. Hasil perhitungan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum

Kelompok Perlakuan	No	Kapasitas
Kelompok kontrol	1.	10,00
	2.	15,00
	3.	13,00
	4.	16,00
	5.	11,00
	X± SD	13,00±2,549
Kelompok pembanding	1.	24,00
	2.	27,00
	3.	23,00
	4.	20,00
	5.	23,00
	X± SD	23,40±2,509
Kelompok 1	1.	29,00
	2.	25,00
	3.	31,00
	4.	33,00
	5.	32,00
	X± SD	30,00±3,162
Kelompok 2	1.	47,00
	2.	45,00
	3.	41,00
	4.	40,00
	5.	62,00
	X± SD	47,00±8,860
Kelompok 3	1.	57,00
	2.	59,00
	3.	63,00
	4.	56,00
	5.	70,00
	X ± SD	61,00±5,700

Lampiran 5. (lanjutan)

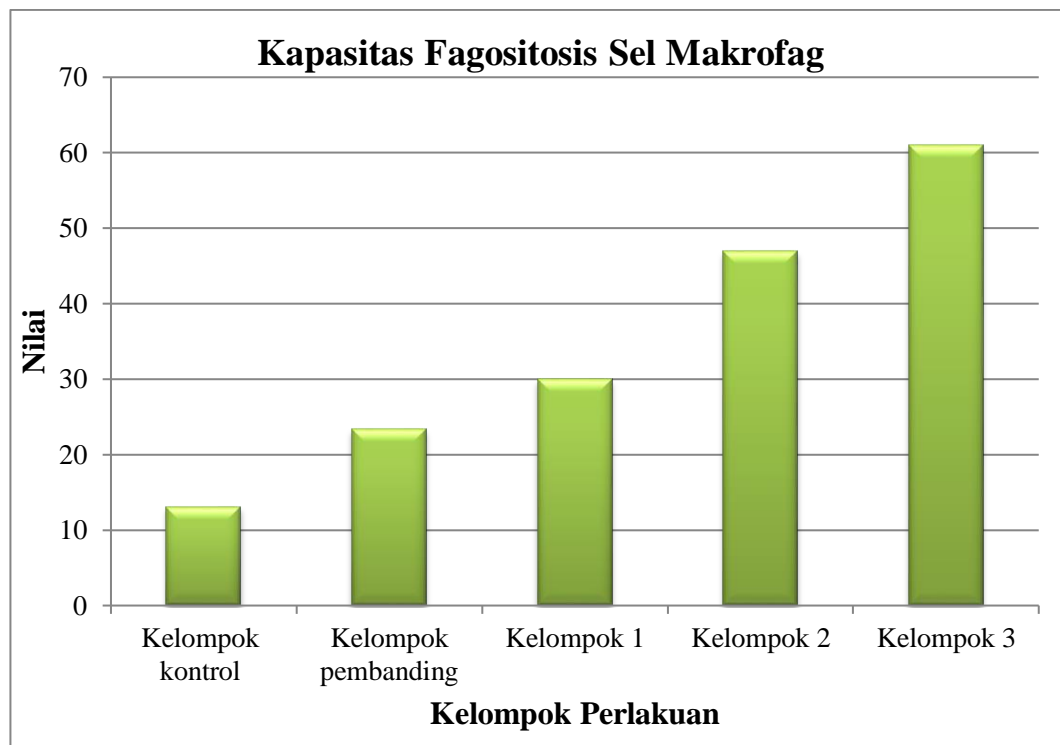


Diagram 4. Diagram batang kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum

Lampiran 5. (lanjutan)

Tabel 18. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan dari kapasitas fagositosis sel makrofag

Descriptives

Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag								
Kelompok Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kelompok kontrol	5	13.0000	2.54951	1.14018	9.8344	16.1656	10.00	16.00
Kelompok pembanding	5	23.4000	2.50998	1.12250	20.2834	26.5166	20.00	27.00
Kelompok 1	5	30.0000	3.16228	1.41421	26.0735	33.9265	25.00	33.00
Kelompok 2	5	47.0000	8.86002	3.96232	35.9988	58.0012	40.00	62.00
Kelompok 3	5	61.0000	5.70088	2.54951	53.9214	68.0786	56.00	70.00
Total	25	34.8800	18.08849	3.61770	27.4134	42.3466	10.00	70.00

ANOVA

Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7317.440	4	1829.360	68.362	.000
Within Groups	535.200	20	26.760		
Total	7852.640	24			

Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag

Duncan					
Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kelompok kontrol	5	13.0000			
Kelompok pembanding	5		23.4000		
Kelompok 1	5		30.0000		
Kelompok 2	5			47.0000	
Kelompok 3	5				61.0000
Sig.		1.000	.057	1.000	1.000

Lampiran 5. (lanjutan)

Tabel 19. Hasil perhitungan persentasi bobot limfa relatif

Kelompok Perlakuan	No	Berat Badan (g)	Berat Limfa (g)	Bobot Limfa Relatif (%)
Kelompok Kontrol	1.	25,58	0,0950	0,3713
	2.	23,11	0,0914	0,3954
	3.	26,92	0,1016	0,3774
	4.	24,48	0,0939	0,3835
	5.	28,02	0,1124	0,4011
	X ± SD	25,62	0,0988	0,3857±0,012
Kelompok Pembeding	1.	26,88	0,1085	0,4036
	2.	27,07	0,1171	0,4325
	3.	26,84	0,1054	0,3926
	4.	28,07	0,1179	0,4200
	5.	24,31	0,1047	0,4306
	X ± SD	26,63	0,1107	0,4158±0,017
Kelompok 1	1.	24,55	0,1104	0,4496
	2.	26,07	0,1111	0,4261
	3.	26,71	0,1199	0,4488
	4.	26,26	0,1158	0,4409
	5.	24,12	0,1026	0,4253
	X ± SD	25,54	0,1119	0,4381±0,010
Kelompok 2	1.	25,31	0,1344	0,5310
	2.	27,10	0,2178	0,8036
	3.	27,69	0,1931	0,6973
	4.	29,91	0,2003	0,6696
	5.	30,54	0,1755	0,5746
	X ± SD	28,11	0,1842	0,6552±0,107
Kelompok 3	1.	26,93	0,1717	0,6375
	2.	25,49	0,2319	0,9097
	3.	30,32	0,2006	0,6616
	4.	24,92	0,2105	0,8447
	5.	26,65	0,1840	0,6904
	X ± SD	26,86	0,1997	0,7487±0,120

Lampiran 5. (lanjutan)

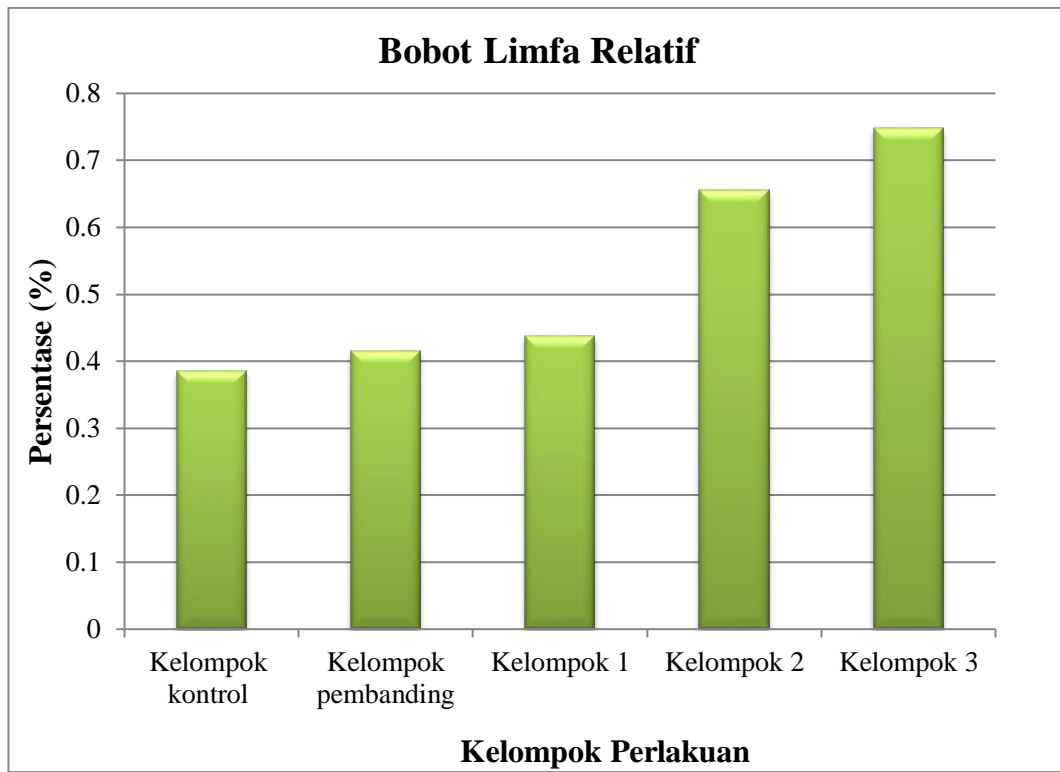


Diagram 5. Diagram batang persentasi bobot limfa relatif

Lampiran 5. (lanjutan)

Tabel 20. Hasil uji ANOVA satu arah dan uji lanjut Duncan dari persentasi bobot limfa relatif

Descriptives

Persentasi Bobot Limfa Relatif								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kelompok kontrol	5	.3857	.01237	.00553	.3704	.4011	.37	.40
Kelompok pembanding	5	.4159	.01734	.00775	.3943	.4374	.39	.43
Kelompok 1	5	.4401	.01002	.00448	.4277	.4526	.43	.45
Kelompok 2	5	.6552	.10715	.04792	.5222	.7883	.53	.80
Kelompok 3	5	.7488	.12092	.05408	.5986	.8989	.64	.91
Total	25	.5291	.16252	.03250	.4621	.5962	.37	.91

ANOVA

Persentasi Bobot Limfa Relatif					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.527	4	.132	24.725	.000
Within Groups	.107	20	.005		
Total	.634	24			

Bobot Limfa Relatif

Duncan			
Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kelompok kontrol	5	.3857	
Kelompok pembanding	5	.4159	
Kelompok 1	5	.4401	
Kelompok 2	5		.6552
Kelompok 3	5		.7488
Sig.		.279	.056