

**AKTIVITAS IMUNOMODULASI EKSTRAK ETANOL
LIDAH BUAYA (*Aloe vera* L.) PADA MENCIT PUTIH
JANTAN DENGAN METODE *CARBON CLEARANCE***

SKRIPSI



Oleh :

RAHMAWATI HASARA

NIM : 1504135

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

PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rahmawati Hasara

NIM : 1504135

Judul Skripsi : Aktivitas Imunomodulasi Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Pada Mencit Putih Jantan Dengan Metode *Carbon Clearance*

Dengan ini menyatakan bahwa :

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

Padang, 29 Maret 2021

Rahmawati Hasara

Lembar Pengesahan Skripsi

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rahmawati Hasara

NIM : 1504135

Judul Skripsi : Aktivitas Imunomodulasi Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Pada Mencit Putih Jantan Dengan Metode *Carbon Clearance*

Telah diuji dan disetujui skripsinya sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) melalui ujian sarjana yang diadakan tanggal 01 Maret 2021 berdasarkan ketentuan yang berlaku

Ketua Sidang

Dr. apt. Eka Fitrianda, M.Farm

Pembimbing I

Anggota Penguji I

apt. Mimi Aria, M.Farm

Drs. B.A. Martinus, M. Si

Pembimbing II

Anggota Penguji II

apt. Nessa, S.Farm, M.Biomed

apt. Noni Rahayu Putri, M.Farm

**Mengetahui :
Ketua Program Studi S1 Farmasi**

apt. Revi Yenti, M.Si

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan maka apabila telah selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya

kepada Tuhanlah hendaknya kamu berharap

(Qs. Alam Nasyrah: 7,9)

Alhamdulillah Sebuah langkah usai sudah satu cita telah ku gapai Namun

Itu bukan akhir dari perjalanan Melainkan awal dari satu perjuangan, sepercik ilmu telah engkau karuniakan kepadaku hanya untuk mengetahui sebagian kecil dari engkau muliakan...

Syukur alhamdulillah ku ucapkan kepada Allah S.W.T

Teruntuk Ayah dan ibu terimakasih telah memberikan penulis semangat dan dukungan dalam melalui hari-hari ini, semua ini berkat do'a dan air mata di setiap sujud kepada Allah SWT.

Skripsi ini rahma persembahkan untuk ayah dan ibu tercinta..

Untuk keluargaku (Kurniawan Ramadhan, Hidayatul Fikri, Aqifa Nayla Hasara dan Kak Devi Amelia) Terima kasih atas segala kasih sayang serta dukungan yang engkau berikan kepadaku... Engkau menjadikan ku kuat di setiap langkah ku....

Teruntuk semua dosen dan staf Universitas perintis Padang, terimakasih untuk ilmu yang sangat berarti semoga berguna dimasa depan. Teristimewa kepada Ibu apt. Mimi Aria, M.Farm dan Ibu apt. Nessa, S.Farm, M.Biomed sebagai pembimbingku serta Ibu apt. Widjastuti, S.Si, M.Farm sebagai pembimbing akademik yang sudah sangat membantu, membimbing serta menasehati selama ini.

Untuk abang "Khairul Amri" terimakasih banyak atas bantuan dan supportnya selama ini mulai dari awal sampai penulis mendapatkan gelar serjana. Semoga sukses selalu.

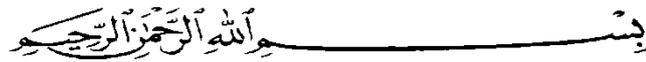
Untuk sahabat penulis yang selalu support dan peduli terimakasih atas bantuannya (Hana, Nadia, Ririn, Rai) teruntuk pendengar keluh kesahku (David) terimakasih telah menjadi pendengar yang baik, Partner of Farmakologi (Ira, Dila, Widy, Siti dan Olip), dan Bang Irul. Terima kasih untuk cinta dan kasih sayang yang tak dapat diungkap, semoga suatu saat kita dapat dipertemukan kembali...

Suka, duka kita lalui bersama, semua kenangan itu takkan kulupakan dan juga buat semua angkatan 15 Quindecim yang tak bisa disebutkan namanya satu persatu, perjalanan panjang telah kita lalui bersama, semoga kita semua bisa dapatkan apa yang kita cita-citakan. Amin ya robbal'amin.

Once again thanks for all who have helped and supported all this time...

By Rahmawati Hasara S.Farm

KATA PENGANTAR



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

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

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

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

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

Padang, 14 Januari 2021

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang aktivitas imunomodulasi ekstrak etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) pada mencit putih jantan dengan metode *Carbon Clearance*. Pengujian dilakukan pada 20 ekor mencit putih jantan yang dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok dosis 50 mg/kgBB, kelompok dosis 100 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Ekstrak etanol lidah buaya diberikan selama enam hari secara peroral dan pada hari ke tujuh ditentukan indeks fagositosis, jumlah total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit, dan bobot limpa relatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa indeks fagositosis kelompok kontrol adalah 1,00, kelompok dosis 50 mg/kgBB adalah 1,38, kelompok dosis 100 mg/kgBB adalah 1,43 dan kelompok dosis 200 mg/kgBB adalah 1,53, dari indeks fagositosis menyatakan bahwa ekstrak etanol lidah buaya bersifat imunostimulan karena indeks fagositosis besar dari satu ($IF > 1$). Berdasarkan uji ANOVA dua arah dilanjutkan dengan uji Duncan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap indeks fagositosis dan berdasarkan uji ANOVA satu arah dilanjutkan dengan uji Duncan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) terhadap jumlah total sel leukosit dan jumlah jenis sel leukosit kecuali monosit sedangkan bobot limpa relatif berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Berdasarkan parameter uji yang telah dilakukan dapat disimpulkan ekstrak etanol lidah buaya (*Aloe vera* L.) pada dosis 50 mg/kgBB, dosis 100 mg/kgBB dan dosis 200 mg/kgBB memiliki aktivitas imunostimulan terhadap mencit putih jantan.

Kata Kunci : (*Aloe vera* L.), Imunomodulasi, *Carbon Clearance*.

ABSTRACT

Research on the immunomodulating activity of the ethanol extract of lidah buaya (*Aloe vera* (L.) Webb) in white male mice using the *Carbon Clearance* method has been carried out. Tests was carried out on 20 white male mice which was divided into four groups, namely the control group, the 50 mg / kgBW dose group, the 100 mg / kgBW dose group and the 200 mg / kgBW dose group. The ethanol extract of lidah buaya was given orally for six days and on the seventh day the phagocytosis index, total number of leukocyte cells, number of types of leukocyte cells, and relative spleen weight were determined. The results showed that the phagocytosis index of the control group was 1.00, the 50 mg / kgBW group dose was 1.38, the 100 mg / kgBW group dose was 1.43 and the 200 mg / kgBW group dose was 1.53, the phagocytosis index stated that the ethanol extract of lidah buya is immunostimulating because the phagocytosis index is greater than one ($IF > 1$). Based on the two-way ANOVA test followed by the Duncan test there was a significant difference ($p < 0.05$) on the phagocytosis index and based on the one-way ANOVA test followed by the Duncan test there was a significant difference ($p < 0.05$) on the total number of leukocyte cells and the number of type of leukocyte cells except monosit while the weight of the spleen was significantly different ($p < 0.05$). Based on the test parameters that have been carried out, it can be concluded that the ethanol extract of lidah buaya (*Aloe vera* L.) at a dose of 50 mg / kgBW, a dose of 100 mg / kgBW and a dose of 200 mg / kgBW has immunostimulating activity against white male mice.

Keywords : (*Aloe vera* L.), Immunomodulation, *Carbon Clearance*.

DAFTAR ISI

JUDUL	i
PERNYATAAN ORSINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA ...	ii
PENGESAHAN	iii
PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Biologi Lidah Buaya	5
2.1.1 Klasifikasi Lidah Buaya	5
2.1.2 Nama Daerah Lidah Buaya	5
2.1.3 Morfologi Tumbuhan	5
2.1.4 penyebaran Tumbuhan	6
2.1.5 Manfaat Tumbuhan	6
2.1.6 Farmakologi Lidah Buaya.....	6
2.1.7 Tinjauan Kimia.....	7
2.1.8 Tinjauan Farmasetik.....	11
2.2 Tinjauan Immunologi.....	11
2.2.1 Pengertian Sistem Imun	11
2.2.2 Jenis-jenis Sistem Imun.....	12
2.2.3 Sel-sel Sistem Imun.....	13
2.2.4 Fagositosis	18
2.2.5 Imunomodulasi.....	19
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.....	22
3.3.1 Pengambilan Sampel	22
3.3.2 Identifikasi Sampel.....	22
3.3.3 Ekstraksi	22
3.4 Karakterisasi Ekstrak	22
3.4.1 Pemeriksaan Organoleptis.....	22
3.4.2 Pemeriksaan Kelarutan.....	23
3.4.3 Penentuan Rendemen Ekstrak.....	23
3.4.4 Penentuan Susut Pengeringan	23

3.4.5 Penetapan Kadar Abu	24
3.4.6 Skrining Fitokimia.....	24
3.5 Uji Aktivitas Imunomodulasi	25
3.5.1 Penyiapan Hewan Percobaan	25
3.5.2 Dosis	25
3.5.3 Persiapan Sediaan Uji.....	26
3.5.4 Penyiapan Aktivitas Ekstrak Lidah Buaya	27
3.6 Analisa Data	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
4.1 Hasil	31
4.2 Pembahasan.....	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	49
5.1 Kesimpulan	49
5.2 Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Waktu pelaksanaan penelitian.....	24
2. Hasil perhitungan rendemen ekstrak etanol lidah buaya	63
3. Hasil pemeriksaan ekstrak etanol lidah buaya	64
4. Hasil pemeriksaan susut pengeringan ekstrak etanol lidah buaya	65
5. Hasil pemeriksaan kadar abu ekstrak etanol lidah buaya	66
6. Hasil pemeriksaan kadar karbon tinta cina	67
7. Nilai absorban karbon dalam darah mencit putih jantan dengan panjang gelombang 638 nm.....	69
8. Nilai absorban dari darah mencit putih jantan yang mengandung karbon setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya.....	70
9. Harga konstanta fagositosis dari darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari.....	72
10. Nilai indeks fagositosis dari darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari.....	74
11. Uji ANOVA dua arah dan uji lanjutan Duncan indeks fagositosis dari darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya selama 6 hari.....	75
12. Jumlah total sel leukosit pada darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari dengan haemocytometer	76
13. Deskriptif, ANOVA satu arah dan uji lanjutan duncan total leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari.....	76
14. Jumlah jenis sel leukosit pada darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya selama 6 hari	78
15. Deskriptif, ANOVA satu arah dan uji lanjutan duncan eosinofil pada darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari	79
16. Deskriptif, ANOVA satu arah dan uji lanjutan duncan neutrofil batang pada darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari	81
17. Deskriptif, ANOVA satu arah dan uji lanjutan duncan neutrofil segmen pada darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari	83
18. Deskriptif, ANOVA satu arah dan uji lanjutan duncan limfosit pada darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari	85
19. Deskriptif dan ANOVA satu arah dan uji lanjutan duncan monosit pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) setelah pemberian ekstrak selama 6 hari	87
20. Bobot limpa relatif mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak	

etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari	88
21.Deskriptif dan ANOVA satu arah bobot limpa relative pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari	89

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur flavonoid.....	8
2. Diagram perbandingan indeks fagositosis pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari	39
3. Diagram jumlah total sel leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari.....	42
4. Diagram jumlah jenis sel leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari.....	43
5. Diagram bobot limpa relatif pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya selama 6 hari	47
6. Hasil identifikasi lidah buaya(<i>Aloe vera</i> L.) di Herbarium ANDA Universitas Andalas.....	53
7. Keterangan lolos kaji etik di Komite Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas ANDALAS	54
8. Lidah (<i>Aloe vera</i> L.)	55
9. Preparat hapusan darah	55
10. Mikroskop	55
11. Bentuk jenis sel leukosit	56
12. haemocytometer	57
13. Spektrofotometer Uv-vis.....	57
14. Bentuk limpa hewan percobaan	58
15. Skema kerja pembuatan ekstrak etanol lidah buaya	59
16. Skema kerja uji fagositosis dengan metode <i>carbon clearance</i>	60
17. Skema kerja penentuan jumlah total sel leukosit dengan metode haemocytometer setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya dengan metode <i>carbon clearance</i>	61
18. Skema kerja penentuan jumlah jenis sel leukosit dengan metode hapusan darah setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya selama 6 hari..	62
19. Pengukuran panjang gelombang maksimum karbon	68
20. Grafik kurva kalibrasi karbon dalam darah mencit putih jantan pada panjang gelombang 638 nm	69
20. Diagram absorban suspensi karbon terhadap waktu pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya(<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari	71
21. Diagram konstanta fagositosis dari darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya (<i>Aloe vera</i> L.) selama 6 hari	73

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Identifikasi lidah buaya.....	53
2. <i>Ethical Clearance</i>	54
3. Dokumentasi penelitian	55
4. Skema Kerja.....	59
5. Hasil pemeriksaan karakteristik ekstrak etanol lidah buaya	63
6. Hasil uji aktivitas imunomodulasi dengan metode <i>carbon clearance</i>	67
7. Hasil perhitungan jumlah total sel leukosit.....	76
8. Hasil perhitungan jumlah jenis sel leukosit	78
9. Hasil perhitungan bobot limpa relatif	88

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sistem pertahanan tubuh atau sistem imun merupakan sistem yang bertanggung jawab melindungi tubuh dari benda-benda asing yang masuk sehingga fungsi tubuh tidak terganggu. Sistem kekebalan tubuh ini terdiri dari dua sistem, yaitu imun alami (non-spesifik) dan imun spesifik. Sistem imun non spesifik merupakan tahapan pertama terhadap mikroorganisme atau benda-benda asing yang masuk dalam tubuh salah satu upaya yang dilakukan sistem imun non-spesifik dalam mempertahankan diri terhadap masuknya antigen dengan cara menghancurkan antigen melalui proses fagositosis. Proses fagositosis yang efektif pada invasi mikroorganisme dini dapat mencegah timbulnya penyakit (Masuria dan Chairul, 2012). Imunomodulator adalah obat yang dapat mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu atau untuk menekan fungsinya yang berlebihan. (Baratawidjaja, 2002).

Pemanfaatan obat-obatan tradisional yang berasal dari tanaman semakin diminati karena tidak mempunyai efek samping seperti halnya obat-obatan dari bahan kimia atau sintetis (Sumaryono, 2002). Lidah buaya (*Aloe vera* L.) merupakan salah satu tanaman obat dari suku *Liliaceae*, tanaman ini berasal dari Afrika, masuk Indonesia sekitar abad ke-17, mempunyai daya adaptasi tinggi dan kegunaan beraneka ragam. Dengan demikian, lidah buaya merupakan salah satu jenis tanaman obat tradisional yang potensial untuk dikembangkan di Indonesia (Santoso, 2003).

Lidah buaya (*Aloe vera* L.) mengandung senyawa flavonoid yaitu flavonol seperti kaempferol, quercetin dan myricetin. Flavonoid diketahui memiliki aktivitas imunostimulan (Riyanto, 2012). Pemakaian oral lidah buaya dibatasi karena efek samping yang ditimbulkan dari lidah buaya, seperti alergi, efek toksik subkronik terhadap mukosa tubuler, kelenjar limfa mesenterik dan lamina propria (Herlina, 2017). Akan tetapi Mukhamad (2019) menyebutkan bahwa lidah buaya (*Aloe vera* L.) dalam jangka panjang, sama sekali tidak menimbulkan efek samping yang membahayakan.

Dari penelitian sebelumnya diketahui, acemannan dapat berinteraksi dengan reseptor manosa yang terdapat pada sel sel makrofag sehingga mampu menstimulasi sistem imun dan menstimulasi murine limfosit sel B dan sel T yang dapat dievaluasi dengan marker CD69 yang didapat hasil aktivasi permukaan limfosit menunjukkan lebih banyak sel B yang distimulasi dibanding sel T limfosit (Simões *et al.*, 2012).

Acemannan (1,4-linked acetylated mannan) merupakan senyawa yang diselingi oleh grup O-asetil dan merupakan senyawa hasil dari ekstraksi lidah buaya. Adanya asetilasi membuatnya menjadi bentuk bioaktif acemannan dan telah ditemukannya residu arabinosa pada strukturnya (Simões *et al.*, 2012). Selanjutnya diketahui bahwa, acemannan memiliki kemampuan untuk meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag, meningkatkan ekspresi sitokin seperti IL-1, IL-6 dan TNF- α serta stimulasi sel TH2 dan menstimulasi proliferasi limfosit limfa dan sumsum tulang belakang. Selain itu, terjadi mekanisme peningkatan respiratory burst, fagositosis dan aktivitas candidacidal. Adanya

peningkatan fungsi makrofag berasosiasi dengan binding mannosylated bovine serum albumins (mBSA) terhadap reseptor di makrofag (Sumit, 2019).

Penelitian mengenai uji aktivitas imunomodulator telah banyak dilakukan. Namun, pengujian aktivitas imunomodulasi dari tanaman lidah buaya (*Aloe vera* L.) menggunakan metoda *carbon clearance* belum dilakukan. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan uji imunomodulasi dari ekstrak etanol lidah buaya (*Aloe vera* L.) dengan metoda *carbon clearance*. Metoda *carbon clearance* dipilih karena dapat mengukur aktivitas sel-sel fagosit untuk membunuh organisme patogen yang masuk kedalam tubuh.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol lidah buaya (*Aloe vera* L.) memiliki aktivitas sebagai imunomodulasi pada mencit putih jantan dengan metode Carbon Clearance, efek dalam mempengaruhi jumlah total sel leukosit, persentase jenis sel leukosit dan bobot limfa relatif pada mencit putih jantan ?
2. Apakah variasi dosis ekstrak etanol lidah buaya (*Aloe vera* L.) mempengaruhi aktivitas imunomodulasi, jumlah total sel leukosit, persentase jenis sel leukosit dan persentase bobot limfa relatif pada mencit putih jantan ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk menentukan aktivitas ekstrak etanol lidah buaya (*Aloe vera* L.) sebagai imunomodulasi dengan metode *carbon clearance*, efek dalam mempengaruhi jumlah total sel leukosit persentase jenis sel leukosit dan persentase bobot limfa relatif pada mencit putih jantan.
2. Untuk melihat pengaruh pemberian variasi dosis ekstrak etanol lidah buaya (*Aloe vera* L.) mempengaruhi aktivitas imunomodulasi, jumlah total sel

leukosit, persentase jenis sel leukosit dan persentase bobot limpa relatif pada mencit putih jantan.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai aktivitas imunomodulasi dari ekstrak etanol lidah buaya (*Aloe vera* L.).
2. Sebagai bahan informasi yang lebih lanjut mengenai aktivitas imunomodulasi pada pemberian ekstrak etanol lidah buaya (*Aloe vera* L.) pada mencit putih jantan.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Biologi Tumbuhan Lidah Buaya (*Aloe vera* L.)

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Berdasarkan tata nama (sistematika) botani tumbuhan lidah buaya (*Aloe vera* L.) dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledoneae
Ordo : Liliales
Family : Liliaceae
Genus : Aloe
Spesies : *Aloe vera* (L.) Burm.F.

(Hartawan, 2012)

2.1.2 Nama Daerah

Lidah buaya mempunyai nama yang bervariasi, tergantung dari negara atau wilayah tempat tumbuh. Latin, Prancis, Portugis dan Jerman (*Aloe*), Inggris (*Crocodiles tongues*), Malaysia (*Jadam*), Cina (*Lu hui*), Spanyol (*Sa'villa*), India (*Musabbar*), Tibet (*Jelly leek*), Indian (*Ailwa*), Arab (*Sabbar*), Indonesia (*Lidah buaya*), Filipina (*Natau*) (Furnawanthi, 2002).

2.1.3 Morfologi

Tanaman lidah buaya mempunyai batang yang berserat atau berkayu. Pada umumnya batang ini sangat pendek, daun yang rapat serta sebagian terbenam dalam tanah. Seperti halnya tanaman berkeping satu lainnya, daun lidah buaya berbentuk tombak dengan helaian yang memanjang. Daunnya berdaging tebal dan

tidak bertulang, berwarna hijau keabu-abuan dan mempunyai lapisan di permukaannya, bersifat skualen (yakni mengandung air, getah, atau lendir yang mendominasi daun). Rata dibagian atas dan membulat (cembung) dibagian bawah. Sepanjang tepi daun juga berjajar gerigi atau duri yang tumpul dan tidak berwarna.

Bunga lidah buaya berbentuk terompet atau tabung kecil sepanjang 2-3 cm. Bunga ini berwarna kuning sampai oranye dan tersusun sedikit berjuntai melingkari ujung tangkai yang menjulang ke atas sepanjang sekitar 50-100 cm. Lidah buaya mempunyai sistem perakaran yang sangat pendek dengan akar serabut yang panjangnya bisa mencapai 30 – 40 cm (Hartawan, 2012).

2.1.4 Penyebaran

Lidah buaya merupakan tanaman asli Afrika, tepatnya di Ethiopia, yang termasuk golongan Liliaceae. Tanaman lidah buaya diduga berasal dari kepulauan Canary disebelah barat Afrika. Beberapa sumber menyatakan bahwa lidah buaya masuk ke Indonesia dibawa oleh petani keturunan Cina pada abad ke-17 (Furnawanthi, 2002).

2.1.5 Tinjauan Farmakologi

Lidah buaya secara tradisional dapat dimanfaatkan sebagai obat luka bakar, jerawat, memperbaiki sistem pencernaan, menghilangkan rasa sakit, bisul, kulit memar, digigit serangga, penyembuh luka, obat penurunan gula darah, rambut rontok, wasir, radang tenggorokan (Hartawan, 2012).

Lidah buaya juga dapat digunakan untuk pencahar yang memberikan efek karminatif (mengeluarkan angin dari perut) serta dapat mengurangi mulas. Getah berlendir yang masih segar dari daun lidah buaya digunakan secara tradisional

oleh masyarakat untuk mengobati luka baru, luka terbakar, lecet dan iritasi pada kulit (Gunawan, 2004).

Lidah buaya juga bisa digunakan sebagai penyubur rambut, perawatan kulit, sebagai bahan baku industri farmasi dan kosmetik. Disamping itu juga sebagai bahan pembuatan makanan dan minuman. Selain itu, menurut Wahyono E dan Kusnandar (2002) daun lidah buaya juga dapat berfungsi sebagai antiinflamasi, antijamur, antibakteri dan regenerasi sel. Selain itu lidah buaya juga bermanfaat untuk menurunkan kadar gula dalam darah bagi penderita diabetes, mengontrol tekanan darah, menstimulasi kekebalan tubuh terhadap serangan penyakit kanker, serta dapat digunakan sebagai nutrisi pendukung bagi penderita HIV. Penggunaannya dapat berupa gel, dalam bentuk segar atau dalam bentuk bahan jadi (kapsul, jus, pasta, atau makanan dan minuman kesehatan).

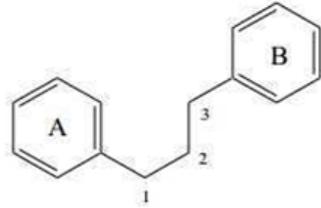
Bunga dan akar lidah buaya juga memiliki khasiat mengobati penyakit, bunganya untuk luka memar dan muntah darah, sedangkan akarnya untuk obat cacing dan susah buang air besar (Furnawanthi, 2002). Selain itu lidah buaya juga bisa digunakan sebagai antiseptik, analgetik, antipiretik (Wijayakusuma, 2000).

2.2 Tinjauan Kimia Lidah Buaya

Kandungan zat aktif lidah buaya yang sudah teridentifikasi adalah serat (Lignin, polisakarida acemannan), asam salisilat, magnesium, kromium, salenium, asam folat, flavonoid, saponin, steroid, kompleks antrakuinon, tannin, asam amino, vitamin A, B1, B2, B3 (niasin), C, E (Hartawan, 2012).

1. Flavonoid

a. Monografi



Gambar 1. Struktur Umum Flavonoid (Harborne, 1987)

Flavonoid termasuk kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon. Dua cincin benzen (C_6) terikat pada suatu rantai propan (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yakni 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1-2-diarilpropan atau isoflavonoid dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid (Okunade, 2002).

Mekanisme flavonoid sebagai imunomodulator dengan meningkatkan aktivitas IL-2 (interleukin 2) dan proliferasi limfosit. Sel Th1 (T helper 1) yang teraktivasi akan mempengaruhi IFN- γ (interferon gamma) yang dapat mengaktifkan makrofag. Makrofag yang teraktivasi akan menghasilkan senyawa salah satunya nitrit oksida yang berguna membunuh bakteri (Ukhrowi, 2011).

b. Identifikasi

Dapat diidentifikasi dengan besi (III) klorida yang menunjukkan adanya gugus fenolik pada flavonoid. Pereaksi asam klorida pekat dan logam dapat membentuk kompleks dengan 4-ketohidroksi pada flavonoid. Flavonoid bereaksi

dengan basa (natrium hidroksida, ammonia) yang akan membentuk garam (Harborne, 1987).

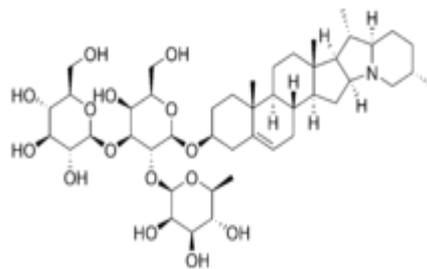
c. Isolasi

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

d. Penetapan kadar

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

2. Saponin



Gambar 2. Struktur Umum Saponin (Harborne, 1987)

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan

bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuan membentuk busa dan menghemolisis sel darah (Robinson, 1995).

Saponin memproduksi cytokines seperti interleukin dan interferons yang berperan dalam efek imunostimulan. Interleukin dan interferons akan bereaksi dengan antigen (benda-benda asing) yang masuk kedalam tubuh (Tizard, 1988). Saponin dalam jumlah normal berperan sebagai immunostimulator, sedangkan dalam jumlah yang melebihi batas normal saponin akan berperan sebagai immunosupresor (zat yang menekan/menurunkan sistem imun (Francis, 2002).

a. Identifikasi

Sampel sebanyak ± 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik hingga terbentuk busa yang mantap kemudian ditambahkan 1 tetes HCl 2 N melalui dinding tabung reaksi. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, busa tidak hilang berarti sampel mengandung saponin (Departemen Kesehatan RI, 1989).

b. Isolasi

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

c. Penetapan kadar

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

2.2.1 Tinjauan Farmasetik

Salah satu bentuk sediaan lidah buaya yang beredar dipasaran yaitu Herbadrink® Lidah Buaya yang diproduksi oleh PT. Konimex, merupakan golongan jamu yang berkhasiat sebagai berikut :

- a. Manfaat lidah buaya untuk kecantikan
- b. Mengatasi kulit kering
- c. Membantu memelihara kesehatan fungsi pencernaan
- d. Melancarkan buang air besar.

Adapun cara pemakaiannya adalah dengan melarutkan 1 sachet yang berisi 10 gr kedalam +/- 150 mL air panas atau dingin.

2.2 Tinjauan Immunologi

2.2.1 Pengertian Sistem Imun

Kata imun berasal dari bahasa latin imunitas yang berarti pembebasan (kekebalan) yang kemudian berkembang sehingga pengertiannya berubah menjadi perlindungan terhadap penyakit, dan lebih spesifik lagi terhadap penyakit menular. Sel dan molekul yang bertanggung jawab dalam imunitas adalah sistem imun, dan keseluruhan sistem yang mengatur respon terhadap pengenalan substansi asing disebut dengan respon imun (Abbas, 2005). Sistem imun adalah semua mekanisme yang digunakan tubuh untuk melindungi dan mempertahankan keutuhan tubuh dari bahaya yang menyerang tubuh (Tjandrawinata *et al.*, 2005).

Menurut Baratawidjaya (1994) sistem imun itu terdiri dari komponen genetik, molekuler, dan seluler yang berinteraksi secara luas dalam merespon antigen endogenus dan eksogenus. Tugas dasar sistem imunitas tersebut antara lain adalah membedakan dirinya sendiri (seluruh sel di dalam tubuh) dengan agen asing (bakteri, virus, toksik, jamur, serta jaringan asing). Menghadapi agen asing tadi, sistem imunitas harus membentuk sel khusus melalui sel darah putih, untuk mengeliminasi pendatang asing tersebut. Karena manusia berinteraksi dengan lingkungan sekitar, sistem imunitas mampu beradaptasi dengan kondisi sehari-hari. Sistem imun terdiri dari sistem imun spesifik dan sistem imun nonspesifik, keduanya berperan terutama dalam proses fagositosis.

2.2.2 Jenis-jenis Sistem Imun

Jenis-jenis sistem imun ada 2, yaitu sistem imun non spesifik dan sistem imun spesifik (Abbas *et al.*, 2000):

1. Respon imun non-spesifik (*Innate immunity*)

Respon imun non-spesifik atau imunitas alami terdiri dari mekanisme yang sudah ada dalam tubuh sebelum terjadinya infeksi yang mampu memberikan respon secara cepat terhadap mikroba dan merupakan reaksi utama melalui cara atau mekanisme yang sama untuk infeksi berulang. Komponen dasar dari respon imun non-spesifik adalah pelindung atau barrier fisik dan bahan kimia seperti lapisan epithelial dan substansi antimikroba yang diproduksi pada permukaan epithelial; sel fagosit seperti neutrofil dan makrofag dan sel natural killer (NK); protein darah termasuk sistem komplemen dan mediator inflamasi; protein yang disebut sitokin yang meregulasi dan mengkoordinasi banyak dari aktivitas sel *innate immunity* (Abbas *et al.*, 2000).

2. Respon imun spesifik (*Adaptive immunity*)

Respon imun spesifik adalah imunitas tubuh yang diperoleh dengan cara beradaptasi atau belajar mengenali secara spesifik berbagai jenis patogen dan mempertahankan memori terhadap patogen tersebut untuk memberikan respon yang cepat terhadap infeksi dimasa mendatang. Adaptasi tersebut terjadi selama respon primer dari sistem imun terhadap berbagai jenis patogen. Respon primer biasanya lambat dan terjadi beberapa hari setelah infeksi awal. Setelah respon membersihkan infeksi, sistem imun akan mempertahankan memori dari berbagai jenis patogen yang menyebabkan infeksi.

Apabila tubuh terinfeksi patogen dari jenis yang sama, tubuh tidak harus beradaptasi kembali terhadap patogen tersebut, karena sudah ada memori terhadap patogen tersebut dan terjadi respon yang lebih cepat yaitu respon sekunder yang biasanya terjadi dengan cepat. Memori tersebut memberikan proteksi seumur hidup terhadap patogen tersebut (Hofmeyr, 2000). Respon imun spesifik mencakup rangkaian interaksi seluler yang diekspresikan dengan penyebaran produk-produk spesifik (Kresno, 2010).

2.2.2 Sel-sel sistem imun

A. Sel-sel sistem imun non spesifik

Komponen seluler sistem imun nonspesifik diantaranya adalah :

a. Sawar Epitel

Sel epitel merupakan penghubung penting antara lingkungan luar dan dalam dari tubuh misalnya pada saluran cerna dan saluran napas. Sel epitel menutupi permukaan tubuh seperti kulit, saluran napas dan cerna, paru, hati, pankreas, ginjal dan lainnya. Sel epitel dapat menjadi tempat masuk

mikroorganisme dan berbagai bahan berbahaya. Peranan epitel yang sangat penting adalah mempertahankan sawar terhadap lingkungan dan melindungi sistem imun yang rentan terhadap mikroorganisme dari luar tubuh.

b. Sistem fagosit

1) Sistem fagosit mononuklear

Sistem fagosit mononuklear ini mencakup promonosit dan prekursorinya dalam sumsum tulang, monosit dalam darah tepi dan makrofag dalam jaringan (jaringan ikat, limpa, hati, paru, sumsum tulang dan kelenjar limfoid) beberapa sel tersebut bergerak-fagositik-menghancurkan bahan asing yang tidak diinginkan.

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

1. Monosit

Monosit adalah fagosit yang didistribusikan secara luas sekali di organ limfoid dan organ lainnya. Peranan dari monosit ini adalah sebagai APC, mengenal, menyerang mikroba dan sel kanker dan juga memproduksi sitokin, mengerahkan pertahanan sebagai respon terhadap infeksi. Beberapa monosit dapat menemukan antigen dan membawanya ke KGB regional tanpa berdiferensiasi

menjadi makrofag. Monosit dapat memproduksi IL-1, IL-6 dan TNF- α yang dapat menginduksi panas dan produksi protein fase akut di hati, memodulasi produksi seng dan tembaga, menginduksi hormon kortikotropik adrenal dalam otak dan mempengaruhi metabolisme. Monosit juga berperan dalam remodeling dan perbaikan jaringan. Sel-sel imun nonspesifik ada dalam darah selama 10 jam sampai 2 hari sebelum meninggalkan sirkulasi darah. Monosit kemudian bermigrasi ke tempat tujuan di berbagai jaringan untuk berdiferensiasi sebagai makrofag.

2. Makrofag

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

2) Sistem fagosit polinuklear

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

a. Neutrofil

Neutrofil merupakan jenis fagosit terbanyak yang biasanya mencapai 50-60% dari seluruh leukosit dalam sirkulasi darah. Neutrofil merupakan sebagian

besar dari leukosit dalam sirkulasi dan hanya dapat bertahan dalam sirkulasi kurang dari 7-10 jam sebelum bermigrasi ke jaringan, dan hidup selama beberapa hari dalam jaringan. Neutrofil mempunyai reseptor untuk IgG (Fc γ -R) dan komplemen. Neutrofil yang bermigrasi pertama dari sirkulasi ke jaringan terinfeksi dengan cepat dilengkapi dengan berbagai reseptor seperti TLR 2, TLR R dan reseptor dengan pola lain. Neutrofil menghancurkan mikroba melalui jalur oksigen independen (lisozim, laktoferin, ROI, enzim proteolitik, katepsin G dan protein kationik) dan oksigen dependen.

b. Eosinofil

Eosinofil merupakan 2-5% dari sel darah putih orang sehat tanpa alergi. Fungsi utamanya adalah melawan infeksi parasit dan dapat juga memakan kompleks antigen antibodi dan juga berperan pada imunitas parasit dan memiliki reseptor antara lain untuk IgE (Fc ϵ -RII dengan afinitas lemah) seperti halnya dengan sel mast (Fc ϵ -RI) dengan afinitas kuat. Eosinofil mengandung berbagai granula seperti MBP, ECP, EDN dan EPO yang bersifat toksik dan bila dilepaskan, dapat menghancurkan sel sasaran. Eosinofil diatur oleh IL-5, IL-13 dan sitokin dari sel imun.

c. Basofil

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

d. Sel Null

Sel Null adalah limfosit dengan sifat sitotoksik intermediet antara sel B dan sel T, jumlahnya kurang dari 3% dengan ukuran sel yang besar dengan granula

besar dan granzim dalam plasma dan hanya hidup 5-6 hari dan berfungsi untuk membunuh sel sasaran tertentu terutama sel penjamu yang terinfeksi virus atau berubah menjadi sel tumor. Sel Null dibagi dalam 2 golongan yaitu sel NK dan sel K.

A. Sel-sel imun spesifik

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

a. Sel B

Sel B merupakan 5-25% dari limfosit dalam darah yang berjumlah sekitar 1000-2000 sel/mm³. Sel B dapat mempresentasikan antigen ke sel T dan melepas sitokin namun fungsi utamanya berkembang menjadi sel plasma yang membuat dan mensekresi antibodi. Perkembangan sel B mulai dari sel prekursor limfoid kemudian berdiferensiasi menjadi sel progenitor B yang mengekspresikan transmembran tirosin-fosfatase (CD45R). Pematangan pregenitor sel B disertai modifikasi gen. Pematangan tersebut terjadi dalam sumsum tulang tidak memerlukan antigen, tetapi aktivasi dan diferensiasi sel B matang di KGB perifer memerlukan antigen.

Dalam perkembangannya mula-mula sel B memproduksi IgM atau isotipe Ig lain (seperti IgG) selanjutnya menjadi matang atau menetap sebagai sel memori. Semula antibodi hanya diproduksi IgM dan setelah itu karena dengan bantuan sel T, sel B dapat memproduksi IgG, IgA, atau IgE. Reseptor permukaan sel (reseptor membran, reseptor transmembran) merupakan protein membran

khusus yang memungkinkan komunikasi antara sel dengan dunia luar. Reseptor sel B (BCR) yang mengikat antigen multivalen asing, akan memacu 4 proses yaitu proliferasi, diferensiasi menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi, membentuk sel memori dan mempersentasikan antigen ke sel T.

b. Sel T

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

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

i. Fagositosis

Fagositosis merupakan proses penelanan yang dilanjutkan dengan pencernaan seluler terhadap bahan-bahan asing yang masuk ke dalam tubuh dengan maksud mengganggu sistem homeostasis tubuh. Proses fagositosis secara garis besar dapat dibedakan dalam 3 tahap (Bellanti, 1993):

a. Pengenalan dan pengikatan bahan asing.

b. Penelanan (ingestion)

c. Pencernaan Fagositosis sebagian besar diperankan oleh makrofag sebab kemampuan fagositosisnya jauh lebih kuat dibandingkan dengan sel fagosit yang lain. Segera setelah menelan bahan asing tersebut, membran makrofag akan menutup. Partikel tersebut digerakkan ke dalam sitoplasma sel dan terbentuk vakuol fagosit. Lisosom adalah kantung-kantung dengan enzim, bersatu dengan fagosom membentuk fagolisosom. Pada keadaan ini dimulailah proses pencernaan intraseluler dan pembentukan zat bakterisidal jika lisosom gagal menerima bahanbahan asing yang masuk ke dalam tubuh.

2.2.5 Imunomodulasi

Imunomodulasi merupakan suatu cara untuk mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu atau untuk menekan atau menormalkan fungsi yang berlebihan. Imunomodulator adalah obat yang digunakan untuk untukmengembalikan ketidakseimbangan sistem imun.

Adapun obat imunomodulator bekerja menurut 3 cara yaitu :

a. Imunorestorasi

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

b. Imunosupresi

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

c. **Imunostimulasi**

Imunostimulasi adalah cara yang digunakan untuk memperbaiki fungsi sistem tubuh yang abnormal khususnya pada sistem imun non spesifik dengan merangsang sistem tersebut menggunakan suatu bahan.

2.3 Metode *Carbon Clearance*

Metode bersihan karbon (*Carbon Clearance*) merupakan pengukuran secara Spektrofluorometrik laju eliminasi partikel karbon dari darah hewan. Ini merupakan ukuran aktivitas fagositosis (Widianto, 1987). Aktivitas fagositosis sistem retikuloendotelial diukur dari kecepatan perpindahan partikel karbon dari aliran darah. Peningkatan indeks pembersihan karbon merefleksikan perbaikan fungsi fagositik dari makrofag mononuklear dan imunitas non spesifik. Fagositosis oleh makrofag penting terhadap parasit kecil dan keefektifannya ditandai dengan peningkatan opsonisasi parasit dengan antibodi dan C3b komplemen, memulai kecepatan pembersihan yang lain untuk parasit dari darah.

Uji *Carbon Clearance* dilakukan untuk mengevaluasi efek obat pada sistem retikuloendotelial. Sistem retikuloendotelial (RES) adalah suatu sistem difusi yang terdiri dari sel fagositik. Sel RES mempunyai peranan penting pada pembersihan partikel dari aliran darah.

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama kurang lebih 3 bulan dari bulan Oktober 2020 sampai Desember 2020 di Laboratorium Farmakologi Universitas Perintis Indonesia, Laboratorium Patologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia dan Herbarium Universitas Andalas.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah botol maserasi, corong (*Pyrex*), syringe 1 mL (*Terumo*), kertas saring, batang pengaduk, pipet tetes, pipet ukur (*Pyrex*), aluminium foil, gunting bedah, beaker glass (*Pyrex*), timbangan hewan, timbangan analitik, *stopwatch*, Mikropipet (*Eppendorf*), gelas ukur (*Pyrex*), labu ukur (*Pyrex*), erlenmeyer (*Pyrex*), Alat-alat Gelas, Spatel, Alat sonde, Pipet Leukosit (*Assistent*), alat Hemasitometer (*Assistent*), *Rotary Evaporator* (*Buchi*), Spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S UV-VIS*), Mikroskop (*ZeissPrimo Star*).

3.2.2 Bahan

Lidah buaya, air suling, larutan NaCl fisiologis 0,9% (*Widatra*), etanol 96%, heksan, etil asetat, metanol (*Brataco*), pewarna giemsa (*Merck*), tinta cina (*Yamura*), asam asetat 1% (*Merck*), reagen Turk (*St.Reagensia*), etanol, HCl pekat, Mg, FeCl₃, Liberman Burchard, HCl 2%, Mayer, Dragendorff, NaCMC 0,5%, EDTA.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah lidah buaya *Aloe vera* L. yang diambil di SMK Pertanian Pembangunan Negeri Padang, Lubuk Minturun, Kota Padang Sumatera Barat.

3.3.2 Identifikasi Sampel

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

3.3.3 Ekstraksi Daun Lidah Buaya

Ekstraksi sampel dilakukan dengan metoda maserasi (perendaman). Daun lidah buaya yang telah dibuang durinya ditimbang lalu dipotong tipis secara horizontal. Kemudian dimasukkan kedalam botol berwarna gelap, direndam dengan etanol 96% selama 5 hari dan disimpan ditempat gelap sambil sesekali diaduk. Maserat diaduk setiap hari. Setelah 5 hari perendaman, disaring dan ampasnya direndam kembali. Penyaringan ini dilakukan sebanyak tiga kali. Filtrat etanol yang didapat dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental, kemudian ditimbang (Departemen Kesehatan RI, 2000).

3.4. Karakterisasi Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* L.)

3.4.1 Pemeriksaan Organoleptis

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

3.4.2 Pemeriksaan Kelarutan

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

3.4.3 Penentuan Rendemen Ekstrak

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

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

Keterangan :

A= berat sampel awal (g)

B = berat ekstrak yang diperoleh (g)

3.4.4 Penentuan Susut Pengerinan

Bertujuan untuk menunjukkan batas maksimum (rentang) senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Krush porselen dipanaskan dalam oven 105°C selama 30 menit, kemudian didinginkan dalam desikator dan berat awal di timbang (W_0). Masukkan ekstrak sebanyak 1 gram kedalam krush tersebut dan di timbang kembali (W_1). Kemudian krush di goyang secara perlahan-lahan agar ekstrak merata. Masukkan ke dalam oven, buka tutup krush dan biarkan kursh terbuka dalam oven. Panaskan selama 2 jam pada suhu 105°C, dinginkan dalam desikator kemudian timbang kembali. Ulangi perlakuan diatas hingga di peroleh bobot tetap (Departemen Kesehatan RI, 2008). Hasil penimbangan dicatat, dan dihitung susut pengeringannya dengan persamaan :

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

Keterangan : W_0 = Kurs timbang (g)

W_1 = Kurs timbang + ekstrak (g)

W_2 = Kurs timbang + hasil pengeringan (g)

3.4.5 Penetapan Kadar Abu

Ekstrak kental ditimbang 2 gram dimasukkan kedalam krush porselen yang telah dipijarkan dan ditimbang. Dipijarkan perlahan-lahan pada suhu 600-700⁰C hingga arang habis, lalu didinginkan dan ditimbang sampai diperoleh bobot tetap (Departemen Kesehatan RI, 1995).

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

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

3.4.6 Uji Skrining Fitokimia

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

a. Uji Flavonoid (Metode Sianidin Test)

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

b. Uji Saponin

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

c. Uji Terpenoid dan Steroid (Metode Simes)

Ambil sedikit lapisan kloroform ditambahkan norit, ditambahkan H₂SO₄(p), ditambahkan asam asetat anhidrat, terbentuknya warna biru ungu menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuk warna merah menunjukkan adanya terpenoid (Sangi *dkk*, 2008).

d. Uji Alkaloid (Metode Culvenore-Fitzgerald)

Ambil sedikit lapisan kloroform tambahkan 10 ml kloroform amoniak 0.05 N, aduk perlahan tambahkan beberapa tetes H_2SO_4 2N kemudian dikocok perlahan, biarkan memisah, lapisan asam ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

e. Uji Fenolik

Ambil lapisan air 1-2 tetes, teteskan pada plat tetes lalu tambahkan pereaksi $FeCl_3$, terbentuknya warna biru menandakan adanya kandungan fenolik.

3.5 Uji Aktivitas Imunomodulasi dengan Metode *Carbon Clearance*

3.5.1 Penyiapan hewan percobaan

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

3.5.2 Dosis yang direncanakan

Sebanyak 20 ekor mencit dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit, yang diberi perlakuan dosis yang terdiri dari 3 variasi yaitu 50 mg/KgBB, 100 mg/KgBB dan 200 mg/KgBB. Variasi dosis tersebut digunakan berdasarkan adanya penelitian sebelumnya (Devi, 2019).

3.5.3 Persiapan Sediaan Uji

1. Pembuatan suspensi karbon koloid

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

2. Penetapan kadar karbon

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

3. Pembuatan kurva baku karbon

Tinta cina yang telah dikeringkan ditimbang sebanyak 100 mg, kemudian ditambahkan asam asetat 1% sampai volumenya 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Masing-masing larutan dipipet sebanyak 6, 5, 4, 3, 2 ml dan dicukupkan dengan asam asetat 1% hingga volume 50 ml, sehingga didapatkan konsentrasi kadar karbon 120, 100, 80, 60, 40 ppm. Dari masing-masing kadar tersebut dipipet sebanyak 4 ml dan ditambahkan darah mencit sebanyak 25 μ L. Setelah dihomogenkan, ukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 650 nm yang merupakan daerah serapan untuk karbon. Plot absorban yang diperoleh dengan kadar karbon digunakan untuk membuat kurva kalibrasi. Sebagai blanko digunakan darah mencit putih jantan dan aquadest.

4. Penyiapan Suspensi Ekstrak Lidah Buaya

Suspensi Ekstrak Lidah Buaya Na CMC 0,5% dibuat dengan cara Na CMC ditimbang 25 mg dikembangkan dengan air panas 20 kalinya, setelah

mengembang digerus hingga homogen, kemudian ditambahkan ekstrak lidah buaya sesuai dengan konsentrasi ekstrak yang telah direncanakan, digerus homogen dan dicukupkan dengan aquadest sampai volume 50 mL.

Konsentrasi ini dapat ditetapkan berdasarkan rumus :

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{Berat Badan} \left(\frac{\text{kg}}{\text{BB}} \right)}{\text{VAO (mL)}}$$

Dosis I : 50 mg/KgBB

Dosis II : 100 mg/KgBB

Dosis III : 200 mg/KgBB

VAO = 1% x berat badan

= 1% x 20 g

= 0,2 mL

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

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

= 5 mg/mL

= 500 mg/100 mL

= 0,5 gr / 100 mL

= 0,5%

Untuk konsentrasi dosis II dan III perhitungan mengikuti cara diatas masing masing yaitu 1% dan 2%.

3.5.4 Penyiapan Aktivitas Ekstrak Lidah Buaya

1. Pengujian Uji Aktivitas Fagositosis (Metode *Carbon Clearance*)

Mencit dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri atas kelompok kontrol diberi NaCMC 0,5%, tiga kelompok diberikan sediaan ekstrak lidah buaya.

Pemberian sediaan uji dilakukan secara oral 1 kali sehari selama 6 hari berturut-turut pada hewan percobaan sesuai dengan dosis. Pada hari ke-7, ekor mencit dibasahi dengan etanol dengan menggunakan kapas agar pembuluh darah vena berdilatasi kemudian ujung ekor mencit dipotong dan darah ditampung pada plat tetes yang telah diberikan sedikit EDTA, dihomogenkan. Darah diambil sebanyak 25 µL dan dilisis dengan 4 mL asam asetat 1%. Darah ini digunakan sebagai banko (menit ke-0), kemudian suspensi karbon 0,1 mL / 10 g BB disuntikkan secara intravena, darah mencit kemudian diambil 25 µL pada menit ke- 3,6,9,12 dan 15. Masing-masing darah dilisis dengan 4 mL asam asetat 1% lalu diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 650 nm (Aldi, 2014). Mencit yang telah diuji bersihan karbon tersebut dikorbankan untuk diambil dan ditimbang bobot limpanya satu per satu. Perhitungan konstanta fagositosis (K) dan indeks fagositosis (IF) dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

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

Keterangan :

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

Perhitungan harga indeks fagositosis dengan rumus sebagai berikut :

$$IF = \frac{\text{Konstanta fagositosis mencit } X}{\text{Konstanta fagositosis rata-rata kontrol}}$$

Keterangan :

IF = Indeks fagositosis

Mencit X = Mencit yang sudah diperlukan dan ditentukan harga konstanta fagositosisnya.

Indeks fagositosis dari tiap kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol.

2. Perhitungan komponen jumlah sel leukosit dengan metode hapusan darah

Satu tetes darah menit ke-0 ditetaskan di atas kaca objek dan diratakan dengan kaca objek lain sehingga diperoleh hapusan darah lalu dikering anginkan. Setelah kering ditetaskan metanol hingga melapisi seluruh hapusan darah lalu di biarkan selama 5 menit. Kemudian dimasukkan 1 tetes larutan pewarna giemsa yang telah diencerkan dengan air suling (1:20), dibiarkan 20 menit, dibilas dengan air suling, dikering anginkan dan ditambah dengan minyak emersi. Dihitung jumlah sel eusinofil, neutrofil batang, neutrofil segmen, limfosit dan monosit dibawah mikroskop pada perbesaran 1000X (Aldi, 2016).

3. Perhitungan Total Sel Leukosit Darah Dengan Haemocytometer

Darah segar diberikan EDTA dihisap dengan pipet leukosit sampai angka 0,5. Kemudian dihisap larutan turk sampai angka 11. Pipet dikocok selama 3menit 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 (Aldi, 2016).

$$\text{Jumlah leukosit yang hitung} = \frac{\text{Jumlah leukosit} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Volume yang dihitung} (\mu\text{L})}$$

4. Perhitungan Bobot Limpa Relatif

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

Persen bobot limpa relatif dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{Bobot limpa relatif} = \frac{\text{Bobot limpa (g)}}{\text{Berat badan mencit (g)}} \times 100\%$$

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini yaitu indeks fagositosis, persentase jenis sel leukosit, dan jumlah total leukosit dianalisis secara statistik dengan ANOVA yang berfungsi untuk mengetahui signifikansi perbedaan rata-rata setiap kelompok sampel, data yang didapatkan berupa data kategorik dan numerik yang bersifat objektif.

Konsentrasi yang diujikan lebih dari satu metode uji statistik analisis varian pada uji aktivitas imunomodulator adalah menggunakan ANOVA dua arah dikarenakan pada penelitian ini menggunakan antara 2 variabel bebas yaitu variasi dosis dan waktu, sedangkan pada jumlah total sel leukosit dan persentase jenis sel leukosit menggunakan ANOVA satu arah karena hanya menggunakan satu variabel bebas yaitu variasi dosis.

Jika hasil yang diperoleh signifikan ($P \leq 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji Duncan (*Duncan New Multiple Range Test*) menggunakan *software* statistic SPSS 23.0 for Windows Evaluation, Uji Duncan berfungsi untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan hasil antara masing-masing kelompok perlakuan.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka didapatkan hasil sebagai berikut:

1. Lidah buaya yang diperoleh diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas, dari hasil identifikasi menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini lidah buaya merupakan spesies *Aloe vera* (L.) Burm.F. dan keluarga *Xanthorrhoeaceae* (Lampiran 1).
2. Dari sampel ekstrak etanol lidah buaya dapat diketahui bahwa hasil rendemen ekstrak etanol lidah buaya adalah 1,125% (Lampiran 5, Tabel 2)
3. Hasil organoleptik menunjukkan bahwa ekstrak etanol lidah buaya memiliki warna coklat kehitaman, bentuk ekstrak kental, bau khas aromatis dan rasa pahit (Lampiran 5, Tabel 3).
4. Ekstrak etanol lidah buaya larut terhadap air dan mudah larut terhadap etanol 96% (Lampiran 5, Tabel 3).
5. Susut pengeringan ekstrak etanol lidah buaya adalah 5,83% dan kadar abu ekstrak didapatkan 4,48% (Lampiran 5, Tabel 3).
6. Uji skrining fitokimia ekstrak etanol lidah buaya mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan steroid (Lampiran 5, Tabel 3).
7. Konstanta fagositosis rata-rata kelompok kontrol adalah 0,041, kelompok dosis 50 mg/kgBB adalah 0,056 kelompok dosis 100 mg/kgBB adalah 0,059 dan kelompok dengan dosis 200 mg/kgBB adalah 0,063 (Lampiran 6, Tabel 9).

8. Nilai indeks fagositosis rata-rata kelompok uji yang diberi ekstrak etanol lidah buaya dengan dosis 50 mg/kgBB adalah 1,384 kelompok uji dengan dosis 100 mg/kgBB adalah 1,438 dan kelompok uji dengan dosis 200 mg/kgBB adalah 1,536 (Lampiran 6, Tabel 10).
9. Jumlah total leukosit darah mencit pada kelompok kontrol adalah 5.820 sel/ μ L, pada kelompok uji yang diberi ekstrak lidah buaya dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB masing-masing adalah 6.240 sel/ μ L, 7.810 sel/ μ L dan 8.380 sel/ μ L (Lampiran 7, Tabel 12).
10. Jumlah jenis sel leukosit pada kelompok kontrol, kelompok dosis 50 mg/kgBB, kelompok dosis 100 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB terhadap sel eosinofil berturut-turut adalah 1,2; 1,8; 2,2 dan 3,0, pada sel neutrofil batang adalah 3,8; 7,4; 8,4 dan 9,2, pada neutrofil segmen adalah 50,6; 51,6; 56,2 dan 62,6, pada limfosit adalah 24,8; 31,8; 36,6 dan 38,4 serta pada monosit adalah 4,2; 4,4; 4,8 dan 5,4 (Lampiran 8, Tabel 14).
11. Persentase bobot limpa relatif pada kelompok kontrol, kelompok dosis 50 mg/kgBB, kelompok dosis 100 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB secara berturut-turut adalah 0,28%, 0,31%, 0,34% dan 0,36% (Lampiran 9, Tabel 19).

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini digunakan sampel berupa ekstrak etanol lidah buaya yang diperoleh dari Lubuk Minturun Padang, Sumatera Barat. Sampel diambil dari SMK Pertanian Pembangunan Padang karena disana telah membudidayakan tanaman Lidah Buaya. Hasil identifikasi tanaman yang telah dilakukan di Herbarium Universitas Andalas, diperoleh hasil bahwa sampel lidah buaya termasuk spesies *Aloe vera* (L.) Burm.F. dan keluarga *Xanthorrhoeaceae*. Lidah buaya yang diperoleh diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas, yang bertujuan untuk memperoleh identitas sampel sehingga tidak terjadi kesalahan terhadap tanaman yang digunakan.

Ekstrak lidah buaya diperoleh dengan melakukan proses ekstraksi terlebih dahulu, metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi yaitu ekstraksi yang menggunakan pelarut dengan beberapa pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan. Metode maserasi dipilih karena pelaksanaannya sederhana, menghindari kemungkinan terjadinya penguraian zat aktif yang terkandung dalam sampel akibat pengaruh suhu dan senyawa yang tidak tahan pemanasan dan dapat digunakan untuk sampel dalam jumlah banyak. Sebelum dimaserasi lidah buaya yang segar sudah dibersihkan sebanyak 8 kg dikering anginkan. Proses pengeringan ini bertujuan agar kadar air berkurang, sampel lebih awet dan memudahkan pelarut dalam menarik komponen bioaktif sampel (Depkes RI, 2000).

Sampel dimaserasi selama 3 hari dengan sesekali diaduk, pengadukan dilakukan untuk menghindari terjadinya kejenuhan pelarut dan juga agar pelarut

dapat terdistribusi secara merata. Proses maserasi dilakukan ditempat yang terlindung cahaya agar terhindar dari kemungkinan terjadinya degradasi struktur senyawa yang kurang stabil karena cahaya (Depkes, 2000). Pelarut organik yang digunakan dalam proses maserasi yaitu etanol karena etanol merupakan pelarut universal yang mampu melarutkan senyawa-senyawa polar, semipolar dan non-polar serta mampu untuk mengendapkan protein dan menghambat kerja enzim sehingga dapat terhindar dari proses hidrolisis dan oksidasi (Harborne, 1987). Etanol yang digunakan yaitu etanol 96% dimana dengan sedikitnya kandungan air dari etanol 96%, penetrasi pelarut ke dalam sampel lebih mudah, terutama karena sampel yang digunakan adalah sampel segar yang mengandung banyak air (Depkes, 2000). Kemudian dilakukan penguapan pelarut terhadap maserat untuk mendapatkan senyawa aktif atau ekstrak kental dengan menggunakan *rotary evaporator*.

Ekstrak kental yang didapatkan adalah 90,27 gram dengan rendemen 1,12% dengan sampel sebanyak 8 kg dan menurut Farmakope Herbal rendemen lidah buaya yaitu tidak kurang dari 0,4% (Lampiran 5, Tabel 2). Pemeriksaan rendemen bertujuan untuk mengetahui persentase ekstrak yang didapat dari sampel awal. Seluruh ekstrak kental yang didapatkan digunakan untuk 2 judul penelitian. Setelah pemeriksaan rendemen, kemudian dilakukan karakterisasi ekstrak spesifik dan non-spesifik. Karakterisasi ekstrak spesifik yang dilakukan meliputi organoleptis (bentuk, warna, bau dan rasa). Karakterisasi ekstrak non-spesifik meliputi susut pengeringan dan kadar abu total. Organoleptis ekstrak kental lidah buaya yaitu berwarna coklat kehitaman, rasa pahit dan berbau khas (aromatis). Pemeriksaan organoleptis bertujuan untuk mengetahui bentuk, rasa,

bau dan warna ekstrak untuk memudahkan dalam mengenali ekstrak secara sederhana. Karakterisasi bertujuan untuk mengamati atau mengukur sifat-sifat atau ciri dari ekstrak yang diperoleh.

Dari hasil pemeriksaan karakterisasi ekstrak secara non-spesifik, diketahui bahwa susut pengeringan ekstrak etanol lidah buaya sebesar 5,83% dimana hasil yang didapat sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia yaitu untuk nilai susut pengeringan tidak lebih dari 12,5% (Lampiran 5, Tabel 3). Pemeriksaan susut pengeringan menunjukkan jumlah bagian yang mudah menguap serta air yang hilang selama pemanasan dan untuk memberi batasan maksimal (rentang) banyaknya senyawa yang hilang pada proses pengeringan dalam ekstrak tersebut. Kadar abu ekstrak lidah buaya 4,48% dimana hasil yang didapat sesuai dengan literatur yaitu Farmakope Herbal tercatat bahwa syarat kadar abu untuk lidah buaya tidak lebih dari 4,9% (Lampiran 5, Tabel 3). Penentuan kadar abu ini menjelaskan bahwa kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai akhir terbentuknya ekstrak (Depkes RI, 2008). Uji fitokimia dilakukan untuk memberikan informasi golongan kandungan kimia sebagai parameter mutu ekstrak dalam kaitannya dengan efek farmakologis, hasil uji ini memberikan hasil bahwa ekstrak etanol lidah buaya memiliki kandungan flavonoid, saponin, steroid, alkaloid dan fenolik (Lampiran 5, Tabel 3).

Ekstrak etanol lidah buaya dibuat sebagai sediaan uji dalam bentuk suspensi, pensuspensi yang digunakan adalah NaCMC 0,5% karena bersifat inert sehingga tidak mempengaruhi khasiat zat aktif, resistensi yang baik terhadap mikroba, stabil, tidak mengiritasi dan tidak toksik (Rowe, 2009). Suspensi ekstrak dibuat berdasarkan dosis yang telah ditentukan, pemberian ekstrak selama 6 hari

berturut-turut kepada hewan percobaan bertujuan untuk memberikan kesempatan kepada ekstrak untuk meningkatkan respon imun dengan cara meningkatkan sel sistem imun didalam tubuh. PMN yang dilepaskan oleh sumsum tulang belakang masuk kedalam darah dan hanya bertahan didalam darah 6-7 jam, kemudian masuk ke jaringan dan bertahan 4-5 hari. Monosit dalam sirkulasi darah bertahan selama 1-3 hari sebelum masuk ke dalam jaringan. Baik monosit maupun PMN setelah dilepas dari sumsum tulang umumnya tidak lagi mengalami mitosis, sehingga bila kebutuhannya meningkat akan diproduksi oleh sumsum tulang dan dari pelepasan persediaan yang ada didalam sumsum tulang (Radji, 2015).

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

Metode *Carbon Clearance* merupakan metode untuk pengujian kemampuan fagositosis dengan cara mengukur darah hewan percobaan pada menit ke-3,6,9,12 dan 15 menggunakan spektrofotometri (Zilhadia *dkk*, 2012). Karbon sebagai benda asing akan difagosit oleh sel-sel fagositosis seperti neutrofil, monosit, makrofag dan eosinofil (Baratawidjaya, 2018). Karbon yang

digunakan adalah tinta cina karena ukuran partikel lebih kecil sehingga tidak terjadi penyumbatan pada pembuluh darah dan paru-paru sedangkan tujuan dikeringkan adalah mendapatkan karbon untuk pembuatan larutan koloid terukur secara kuantitatif.

Pada uji penetapan kadar karbon dapat diketahui kadar karbon tinta cina yang digunakan adalah 30,9268% (Lampiran 6, Tabel 6). Pembuatan suspensi karbon dilakukan dengan penambahan NaCMC 0,5% dengan konsentrasi 6,4% dan pelarut yang digunakan adalah NaCl Fisiologis yang bertujuan agar kondisi sediaan suspensi karbon sama dengan kondisi tubuh mencit.

Efek fagositosis uji bersihan karbon dapat dilihat melalui kurva baku antara kadar karbon dalam darah dengan nilai absorban. Nilai absorban didapatkan menggunakan spektrofotometer UV-Vis *double-beam* dimana blanko diukur bersamaan dengan larutan yang digunakan dalam satu kali proses yang sama (Harmita, 2009). Panjang gelombang maksimal karbon pada penelitian sebelumnya adalah 650 nm dan setelah dilakukan pengukuran ulang didapatkan bahwa terjadi pergeseran panjang gelombang maksimal menjadi 638 nm, pergeseran ini terjadi dikarenakan ada pengaruh lain seperti jenis pelarut, pH larutan, suhu, konsentrasi tinggi dan zat-zat pengganggu (Gandjar dan Rohman, 2007). Dari kurva baku tersebut diperoleh persamaan regresi absorban yaitu $y = 0,010x + 0,226$, $R^2 = 0,998$ (Lampiran 6, Tabel 7). Pembuatan kurva baku ini berguna untuk melihat hubungan linear antara kadar karbon dalam darah dengan optical density (Lampiran 6, Gambar 19).

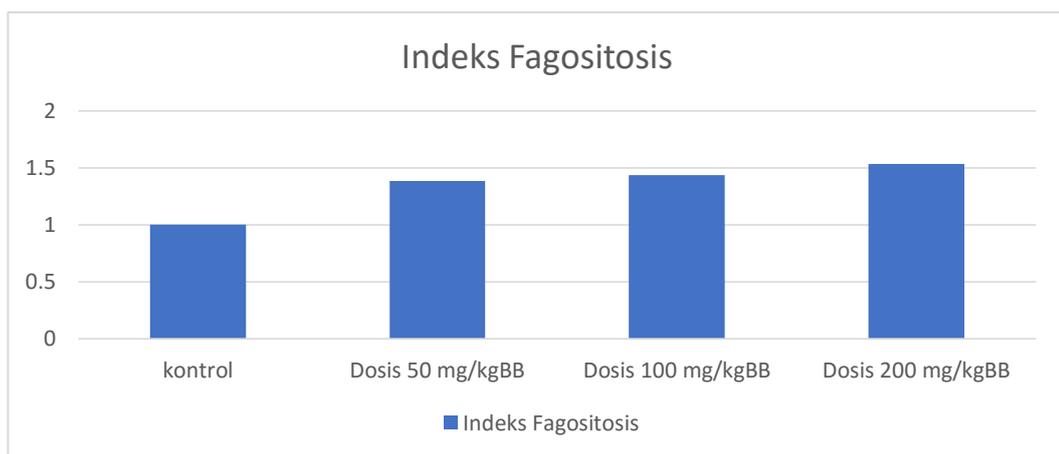
Berdasarkan penelitian dengan menggunakan metoda *Carbon Clearance* dapat dilihat nilai absorban pada semua kelompok dosis yaitu dosis 50 mg/kgBB,

100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB bahwa ekstrak etanol lidah buaya memberikan penurunan terhadap jumlah atau kadar karbon yang mengindikasikan bahwa adanya respon imun dari tubuh terhadap masuknya zat asing. Hal tersebut diperkuat oleh pendapat Baratawidjaja (2018) yang menyatakan bahwa sistem imun nonspesifik maupun spesifik berfungsi untuk melindungi antigen yang masuk ke dalam tubuh oleh semua sel sistem imun berasal dari sumsum tulang seperti neutrofil, basofil, eosinofil, makrofag dan sel limfoid seperti limfosit B, T dan NK yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis secara cepat dan efisien dalam menyingkirkan antigen.

Konstanta fagositosis dapat dihitung dari nilai absorban yang didapatkan. Konstanta fagositosis merupakan parameter yang menunjukkan kecepatan proses fagositosis yang menunjukkan bahwa semakin besar nilai konstanta fagositosis maka semakin tinggi kecepatan bersihan karbon. Rata-rata konstanta yang didapatkan yaitu pada kontrol 0.041, dosis 50 mg/kgBB 0.056, dosis 100 mg/kgBB 0.059 dan dosis 200 mg/kgBB 0.063 (Lampiran 6, Tabel 9). Hal ini membuktikan bahwa terjadi peningkatan aktivitas fagositosis pada masing-masing kelompok variasi dosis.

Nilai indeks fagositosis dapat dihitung setelah diketahui nilai konstanta fagositosis. Nilai konstanta fagositosis berbanding lurus dengan nilai indeks fagositosis dimana semakin besar nilai konstanta fagositosis dan nilai indeks fagositosis yang dihasilkan maka semakin cepat pula sel fagositik melakukan proses fagositosis. Rata-rata indeks fagositosis yang didapat yaitu kelompok kontrol, kelompok dosis 200 mg/kgBB, kelompok dosis 400 mg/kgBB dan kelompok dosis 600 mg/kgBB secara berturut-turut adalah 1,00; 1,38; 1,43 dan

1,53 (Lampiran 6, Tabel 10). Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa zat uji bersifat imunomodulator yaitu imunostimulant karena indeks fagositosis besar dari satu ($IF > 1$). Artinya ada hubungan peningkatan dosis dengan nilai indeks fagositosis, yaitu semakin besar peningkatan dosis maka nilai indeks fagositosis semakin tinggi dan nilai indeks fagositosis yang didapatkan menunjukkan bahwa adanya aktivitas fagositosis sel-sel fagositik terhadap karbon yang dijadikan sebagai marker akibat dari pengaruh pemberian ekstrak etanol lidah buaya.



Gambar 2. Diagram Perbandingan Indeks Fagositosis Pada Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) Selama 6 hari.

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

Berdasarkan uji lanjut duncan ANOVA dua arah terhadap kelompok dosis diperoleh hasil bahwa indeks fagositosis kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan indeks fagositosis kelompok dosis 50 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan indeks fagositosis kelompok dosis 100 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Indeks fagositosis kelompok dosis 50 mg/kgBB tidak berbeda nyata

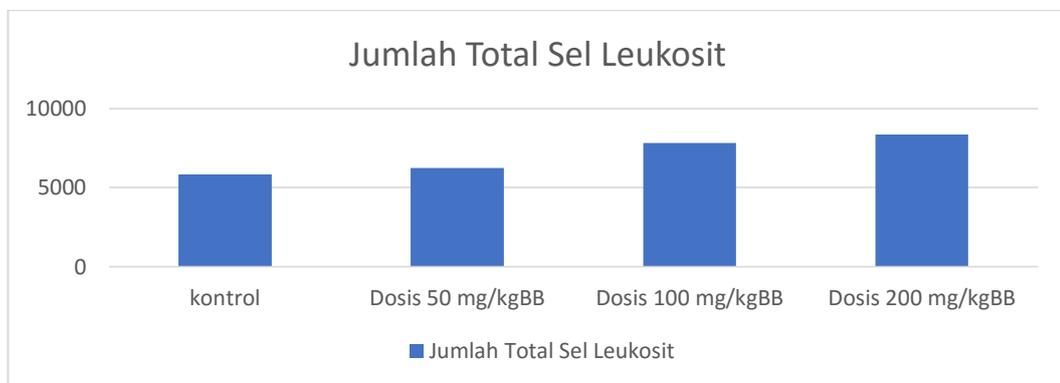
dengan indeks fagositosis kelompok kontrol tetapi berbeda nyata dengan indeks fagositosis kelompok dosis 100 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Indeks fagositosis kelompok dosis 100 mg/kgBB berbeda nyata dengan indeks fagositosis kelompok kontrol, kelompok dosis 50 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Indeks fagositosis kelompok dosis 200 mg/kgBB berbeda nyata dengan dengan indeks fagositosis kelompok kontrol, kelompok 50 dosis mg/kgBB dan kelompok dosis 100 mg/kgBB. Berdasarkan uji duncan tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol lidah buaya selama 6 hari pada dosis 100 mg/kgBB dan dosis 200 mg/kgBB mempengaruhi indeks fagositosis karena berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Lampiran 6, Tabel 11). Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa dosis dapat mempengaruhi indeks fagositosis dan dosis yang paling efektif adalah dosis 200 mg/kgBB.

Peningkatan indeks fagositosis memberikan gambaran efek ekstrak etanol lidah buaya terhadap respon imun. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin dan tanin dari lidah buaya yang berperan sebagai imunostimulan. Senyawa aktif seperti saponin merupakan zat aktif yang diduga meningkatkan sistem kekebalan tubuh dengan cara meningkatkan produksi sitokin seperti interleukin dan interferon. Kemudian senyawa tanin juga dapat mempengaruhi aktivitas fisiologi seperti menstimulasi sel fagosit, antitumor, dan antiinfeksi (Haslam, 1996). Mekanisme imunostimulan pada lidah buaya kurang lebih sama seperti mekanisme tanaman yang mengandung senyawa yang dijelaskan diatas, yaitu dengan cara meningkatkan jumlah proliferasi T-limposit, sel T CD4 dan TNF- α (Pakadang *et al*, 2015).

Perhitungan terhadap total sel leukosit dilakukan dengan menggunakan haemocytometer dimana jumlah total sel leukosit rata-rata pada kelompok kontrol negatif 5.820 sel/ μ L, pada dosis 50 mg/kgBB 6.240 sel/ μ L, pada dosis 100 mg/kgBB 7.810 sel/ μ L dan pada dosis 200 mg/kgBB 8.380 sel/ μ L (Lampiran 7, Tabel 12). Berdasarkan uji ANOVA satu arah dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak lidah buaya selama 6 hari dapat mempengaruhi jumlah total sel leukosit secara signifikan ($P < 0,05$) (Lampiran 7, Tabel 12) artinya jumlah total sel leukosit kelompok kontrol berbeda nyata dengan jumlah total leukosit kelompok uji.

Berdasarkan uji Duncan, diperoleh hasil bahwa jumlah total sel leukosit pada kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan jumlah total sel leukosit kelompok dosis 50 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan jumlah total sel leukosit kelompok dosis 100 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Jumlah total sel leukosit pada kelompok dosis 50 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan jumlah total sel leukosit kelompok kontrol dan kelompok dosis 100 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan jumlah total sel leukosit kelompok dosis 200 mg/kgBB atau efeknya berada diantara jumlah total sel leukosit kelompok kontrol dan kelompok dosis 100 mg/kgBB. Jumlah total sel leukosit kelompok dosis 100 mg/kgBB berbeda nyata dengan jumlah total sel leukosit kelompok kontrol tetapi tidak berbeda nyata dengan jumlah total sel leukosit kelompok dosis 50 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB atau efeknya berada diantara kelompok dosis 50 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Jumlah total sel leukosit pada kelompok dosis 200 mg/kgBB berbeda nyata dengan jumlah total sel leukosit kelompok kontrol, kelompok dosis 50 mg/kgBB dan kelompok dosis 100 mg/kgBB. Berdasarkan uji duncan disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol

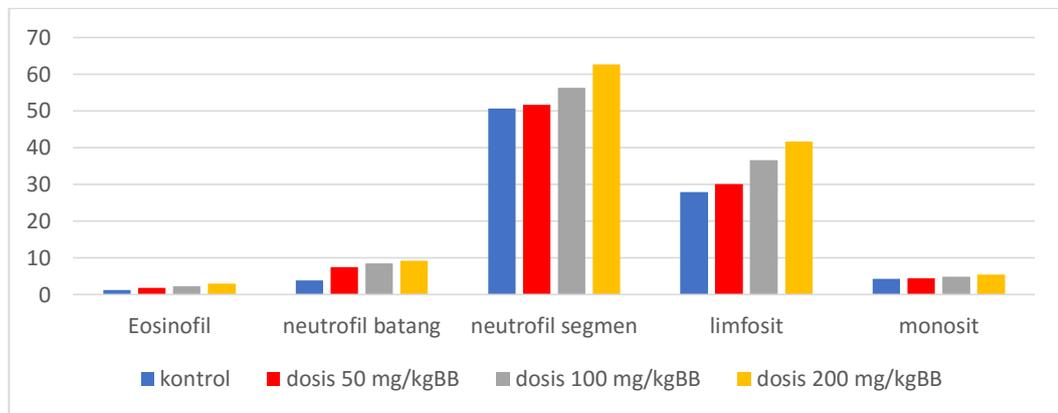
lidah buaya pada kelompok dosis 50 mg/kgBB tidak mempengaruhi total sel leukosit karena tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol, namun pemberian pada kelompok dosis 100 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB mempengaruhi total sel leukosit (Lampiran 7, Tabel 13).



Gambar 3. Diagram Jumlah Total Sel Leukosit Pada Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Selama 6 hari.

Perhitungan jumlah jenis sel leukosit seperti eosinofil, sel neutrofil batang, sel neutrofil segmen, limfosit dan monosit dilakukan dengan menggunakan metode hapusan darah. Dimana pada metode ini yang digunakan adalah minyak emersi sebagai penjelas bentuk sel leukosit dan giemsa sebagai pewarna. Pada metode ini basofil yang bersifat basa tidak bisa dihitung karena sel basofil ini akan larut dengan pewarna giemsa. Dari perhitungan jumlah jenis sel leukosit didapatkan hasil bahwa jumlah jenis sel leukosit pada kelompok kontrol, kelompok dosis 50 mg/kgBB, kelompok dosis 100 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB terhadap sel eosinofil berturut adalah 1,2; 1,8; 2,2; dan 3,0 pada sel neutrofil batang adalah 3,8; 7,4; 8,4; dan 9,2 pada neutrofil segmen adalah 50,6; 51,6; 56,2 dan 62,6 pada limfosit adalah 27,8; 30; 36,6 dan 41,6 serta pada monosit adalah 4,2; 4,4; 4,8 dan 5,4 (Lampiran 8, Tabel 14). Hasil uji statistik menggunakan analisis ANOVA satu arah, terlihat bahwa pemberian ekstrak lidah

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



Gambar 4. Diagram Jumlah Jenis Sel Leukosit Pada Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) Selama 6 hari.

Uji lanjut Duncan terhadap jumlah eosinofil setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya selama 6 hari diperoleh hasil bahwa jumlah eosinofil kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan jumlah eosinofil kelompok dosis 50 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan jumlah eosinofil kelompok dosis 100 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Jumlah eosinofil kelompok dosis 50 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan jumlah eosinofil kelompok kontrol dan kelompok dosis 100 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan kelompok dosis 200 mg/kgBB atau efek kelompok dosis 50 mg/kgBB berada diantara kelompok kontrol dan kelompok dosis 100 mg/kgBB (Lampiran 8, Tabel 15). Jumlah eosinofil kelompok dosis 100 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan jumlah eosinofil kelompok dosis 50 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan jumlah eosinofil kelompok kontrol atau efeknya berada diantara

kelompok dosis 50 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Jumlah eosinofil kelompok dosis 200 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan jumlah eosinofil kelompok dosis 100 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan kelompok kontrol dan kelompok dosis 50 mg/kgBB (Lampiran 8, Tabel 15).

Uji lanjut Duncan terhadap jumlah neutrofil batang setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya selama 6 hari diperoleh hasil bahwa kelompok kontrol berbeda nyata dengan kelompok dosis 50 mg/kgBB, kelompok dosis 100 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Jumlah neutrofil batang kelompok dosis 50 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan kelompok dosis 100 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan jumlah neutrofil batang kelompok kontrol dan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Jumlah neutrofil batang kelompok dosis 100 mg/kg berbeda nyata dengan jumlah neutrofil batang kelompok kontrol tetapi tidak berbeda nyata dengan jumlah neutrofil kelompok dosis 50 mg/kgBB dan dosis 200 mg/kgBB atau efek dosis 100 mg/kgBB berada diantara dosis 50 mg/kgBB dan dosis 200 mg/kgBB. Jumlah neutrofil batang kelompok dosis 200 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan jumlah neutrofil batang kelompok 100 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan jumlah neutrofil batang kelompok kontrol dan kelompok dosis 50 mg/kgBB (Lampiran 8, Tabel 16).

Uji lanjut Duncan terhadap jumlah neutrofil segmen setelah pemberian ekstrak lidah buaya selama 6 hari diperoleh hasil bahwa kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan kelompok dosis 50 mg/kgBB dan kelompok dosis 100 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Jumlah neutrofil kelompok dosis 50 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan kelompok dosis kontrol dan kelompok dosis 100 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan

kelompok dosis 200 mg/kgBB. Jumlah neutrofil segmen kelompok dosis 100 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol, kelompok dosis 50 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB atau efeknya berada diantara kelompok dosis 50 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Jumlah neutrofil segmen pada kelompok dosis 200 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan kelompok dosis 100 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan kelompok kontrol dan kelompok dosis 50 mg/kgBB (Lampiran 8, Tabel 17).

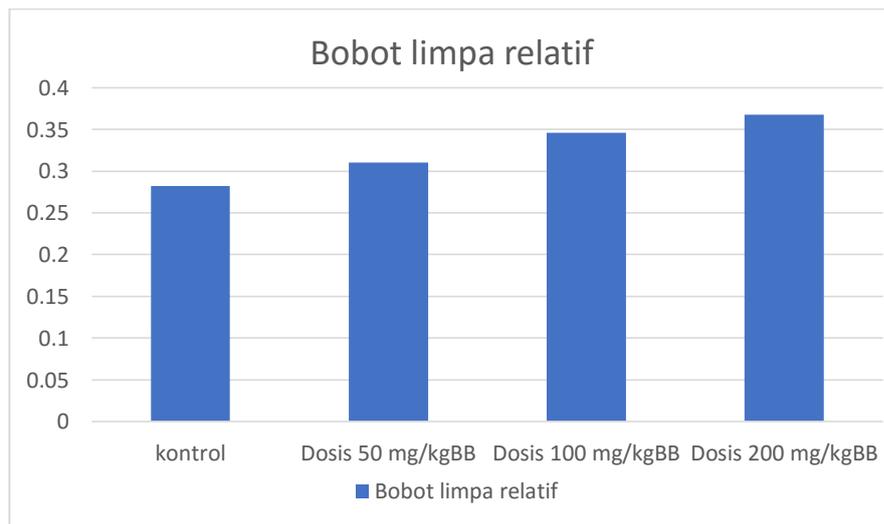
Uji lanjut Duncan terhadap jumlah limfosit setelah pemberian ekstrak etanol lidah buaya selama 6 hari diperoleh hasil bahwa kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan kelompok dosis 50 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan kelompok dosis 100 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Jumlah limfosit kelompok dosis 50 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol atau efeknya berada diantara kelompok kontrol dan kelompok dosis 100 mg/kgBB. Jumlah limfosit kelompok 100 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan kelompok dosis 50 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan kelompok kontrol. Jumlah limfosit kelompok dosis 200 mg/kgBB berbeda nyata dengan kelompok kontrol.

Limpa dari mencit digunakan untuk uji respon imun spesifik. penimbangan limpa ini dihitung pada akhir eksperimen. Antigen yang dibawa oleh darah ditangkap kemudian dikonsentrasikan oleh sel-sel dendritik serta makrofag di dalam limpa. Limpa mengandung banyak sekali fagosit, yang memakan serta menghancurkan antigen didalam darah (Abbas, 2016). Limpa bereaksi terhadap antigen yang terbawa darah dan merupakan organ pembentukan antibodi (Radji, 2015).

Hasil penimbangan bobot limpa relatif didapatkan hasil bahwa rata-rata pada kelompok kontrol, kelompok dosis 50 mg/kgBB, dosis 100 mg/kgBB dan dosis 200 mg/kgBB secara berturut-turut adalah 0,28%, 0,31%, 0,34% dan 0,36%. (Lampiran 9, Tabel 19). Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh variasi dosis terhadap bobot limpa relatif, hal ini juga berbanding lurus terhadap peningkatan limfosit pada pengukuran jenis total leukosit. Peningkatan tersebut disebabkan karena limpa dapat mengekstraksi sel darah merah tua dan rusak, menyingkirkan debris dan bahan asing dari darah yang masuk ke limpa (mikroba dalam darah dibersihkan dalam limpa). Limpa dapat memproduksi sel B dan sel T. Senyawa flavonoid dari ekstrak etanol lidah buaya dapat meningkatkan proliferasi dan differensiasi sel B dan sel T sehingga menjadi limfosit yang dapat mengenal antigen (Baratawidjaja, 2018). Didalam sistem imun spesifik ini sel T Th2 membantu sel limfosit B berdiferensiasi menjadi sel plasma yang akan menghasilkan antibodi (Radji, 2015). Selain itu, sel T juga dapat berperan dalam pengenalan dan penghancuran sel yang terinfeksi virus. Antibodi merupakan komponen imunitas didapat yang melindungi tubuh terhadap infeksi mikroorganisme dan produk yang toksik (Baratawidjaja, 2018). Berdasarkan Uji statistik menggunakan ANOVA satu arah terlihat bahwa pemberian ekstrak etanol lidah buaya pada mencit putih jantan selama 6 hari mempengaruhi bobot limpa relatif secara signifikan ($P > 0,05$) (Lampiran 9, Tabel 20). Artinya bobot limpa relatif kelompok kontrol berbeda nyata dengan bobot limpa relatif pada kelompok uji.

Berdasarkan uji duncan, diperoleh hasil bahwa bobot limpa relatif pada kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan kelompok dosis 50 mg/kgBB tetapi

berbeda nyata dengan kelompok dosis 100 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Jumlah bobot limpa relatif pada kelompok dosis 50 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol dan kelompok dosis 100 mg/kgBB atau efeknya berada diantara kelompok kontrol dan kelompok dosis 100 mg/kgBB tetapi berbeda nyata dengan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Jumlah bobot limpa relatif pada kelompok dosis 100 mg/kgBB berbeda nyata dengan kelompok kontrol tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok dosis 50 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB atau efeknya berada diantara kelompok dosis 50 mg/kgBB dan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Jumlah bobot limpa relatif pada kelompok dosis 200 mg/kgBB berbeda nyata dengan kelompok kontrol dan kelompok dosis 50 mg/kgBB Tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok dosis 100 mg/kgBB.



Gambar 5. Diagram Bobot Limpa Relatif Pada Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) selama 6 hari.

Berdasarkan penelitian ini didapatkan hasil bahwa variasi dosis dapat memberikan peningkatan pada parameter sel-sel sistem imunitas nonspesifik yaitu indeks fagositosis, jumlah total sel leukosit dan jumlah jenis sel leukosit serta

parameter sistem imun spesifik yaitu bobot limpa relatif. Dimana antara sistem imun nonspesifik dan spesifik memiliki aktivitas yang saling berinteraksi atau berhubungan satu sama lain seperti makrofag dan neutrofil berikatan dengan dinding pembuluh darah, keluar dari pembuluh darah dan bergerak ke tempat infeksi untuk memakan mikroba penyebab infeksi. Selama proses ini juga terjadi rangsangan untuk meningkatkan mobilitas fagosit dan mediator larut CRP, MBL dan komplemen melalui arus darah ke tempat infeksi. SD memakan dan memproses komponen mikroba, bermigrasi melalui saluran limfe ke kelenjar limfoid yang dekat dan mempersentasikan antigen ke sel T. Sel T yang diaktifkan bermigrasi ke tempat infeksi dan memberikan bantuan ke sel NK dan makrofag. Sitokin yang diproduksi selama respons nonspesifik mendukung dan mengarahkan respons imun spesifik ke tempat infeksi. LPS (produk mikroba), IFN (produk sel NK dan sel T) memacu transkripsi gen APC untuk memproduksi IL-12 yang memacu diferensiasi sel CD4⁺ menjadi sel efektor Th1 yang memproduksi IFN- γ yang akhir meningkatkan fagositosis makrofag untuk membunuh mikroba dan merangsang sel B untuk memproduksi IgG yang bekerja sebagai opsonin dalam fagositosis. (Baratawidjaja, 2018).

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

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan beberapa parameter uji dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol lidah buaya (*Aloe vera* L.) mempunyai kemampuan aktivitas imunomodulasi yaitu imunostimulan.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang aktivitas imunomodulasi ekstrak etanol lidah buaya (*Aloe vera* L.) pada mencit putih jantan dengan metode *Carbon clearance* dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak lidah buaya memiliki efek imunomodulator dengan indeks fagositosis besar dari 1 (IF>1) serta meningkatkan jumlah total sel leukosit, jumlah jenis sel leukosit dan bobot limpa relatif.
2. Variasi dosis ekstrak lidah buaya yang diberikan terhadap mencit putih jantan mempengaruhi aktivitas imunomodulasi dan dosis yang paling efektif adalah dosis 200 mg/kgBB.

5.2 Saran

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

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, Abdul, K., Andrew.,H., Litchman., J.S., dan Pober. 2000. *Cellular and Molecular Immunology*. W.B. Amerika Serikat: Saunders Company.
- Abbas., Abdul, K., Andrew. H. Lichtmandan Shiv Pillai. 2016. *Imunologi Dasar Abas : Fungsi dan Kelainan Sistem Imun*. Edisi V. Singapore: Elsevier.
- Aldi, Y., Yahdian, R dan Dian, H. 2014. Aktivitas Imunomodulator dari Ekstrak Etanol Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) terhadap Ayam Broiler. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*: 1(1):20-26.
- Aldi, Y., Ones N.D dan Rahimatul, U. 2016. Uji Imunomodulator dan Jumlah Sel Leukosit Dari Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.). *Scientia*. 6(2): 139-147.
- Baratawidjaja, K.G. 1994. *Imunologi Dasar*. Dalam: Soeparman, Sarwono Waspadji, editor: Ilmu Penyakit Dalam. Edisi 3. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Baratawidjaja, K.G dan Iringi, R. 1996. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Baratawidjaja, K.G. dan Iringi R. 2018. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Baratawidjaja, K.G. 2002. *Imunologi Dasar*. Edisi V. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Bellanti, J. A. 1993. *Immunology III*. Washington D.C: Georgetown University School of Medicine.
- Departemen kesehatan, RI. 1989. *Farmakope Indonesia*, Jilid IV. Jakarta : Dirjen POM
- Departemen kesehatan, RI. 1995. *Farmakope Indonesia*, Jilid IV. Jakarta : Dirjen POM
- Departemen kesehatan, RI. 2014. *Farmakope Indonesia*, Jilid IV. Jakarta : Dirjen POM
- Departemen kesehatan, RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat* Edisi I. Dirjen POM : Jakarta
- Departemen kesehatan, RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia (I)*. Jakarta: Ditjen POM.
- Djamal, R. 2010. *Kimia Bahan Alam : Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*. Padang : Universitas Baiturrahmah.

- Furnawanthi, I. 2002. *Khasiat dan Manfaat Lidah Buaya*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Gunawan, D dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Gandjar, I.G dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Harmita. 2009. *Analisa Fisikokimia Kromatografi*. Volume 2. Jakarta: EGC.
- Hartawan, E.Y. 2012. *Sejuta Khasiat Lidah Buaya*. Edisi 1. Jakarta: Pustaka Diantara.
- Haslam, E. 1996. Natural Polyphenols (Vegetable Tannins), as Drugs: Possible modes of Action. *Journal. Prod*: 59. 205-215.
- Hofmeyr, S.A. 2000. *An Interpretative Introduction to The Immune System*. Dept. of Computer Science, University Of New Mexico.
- Kresno, S.B. 2010. *Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Maharani, A. 2015. Ekstrak Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd.) Terhadap Mencit Putih Jantan. *Skripsi*. Padang: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
- Masurin, S dan Chairul. 2012. Efek Ekstrak Air Dan Alkohol Pada Siwak (*Salvadora Persica* L.) Terhadap Peningkatan Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag. *Media Litbang Kesehatan*. 22(1):38-44.
- Pakadang, S. R., Chatarina U.W., Hari B.N., Dwi W., Ressay D., Yadi, Muhammad S., Mochammad. H. 2015. Immunomodulator Potential of Miana Leaves (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) in Prevention of Tuberculosis Infection. *American Journal of Microbiological Research*. 3 (4) : 129-134.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J and Shahabimajd N. 2006. *Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medicinal Plants*. African Journal of Biotechnology.
- Radji, M. 2015. *Imunologi & Virologi*. Edisi revisi. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan.
- Rajin, M. 2019. *Manfaat Lidah Buaya Sebagai Obat Herbal Pendamping Infeksi Kuman Tuberkulosis*. Jakarta : Cakrawala Indonesia.
- Riyanto dan Chatarina, W. 2012. Stabilitas Sifat Antioksidatif Lidah Buaya (*Aloe vera var. chinensis*) Selama Pengolahan Minuman Lidah Buaya. *Agritech*. 32(1):73-74.

- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi* (Kosasi Padmawinata, Penerjemah). Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Rosyidah, D., Yustika Q.P dan Oktein S. 2019. Efek Hipolidemik Ekstrak Etanol Lidah Buaya (Aloe vera L) Pada Tikus Putih Jantan Model Hiperkolesterolemia. *Biomedika*. 11(1):41-47.
- Rowe, R.C and Sheskey PJ, Q. M. 2009. *Hanbook of Pharmaceutical Excipients*. 6th ed. USA: Pharmaceutical Express.
- Sangi, M., Runtuwene M.R.J., Simbala, H.E., dan Makang V.A. 2008. *Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara*.
- Simões, Joana, Fernando, M., Unes, Pedro, D and Manuel A.C. 2012. *Mass Spectrometry Characterization of an Aloe vera mannan Presenting Immuno Stimulatory Activity* . *Carbohydrate Polymers*. 90: 229-236
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi*. diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB: Bandung.
- Sumaryono, W. 2002. Penelitian Obat Tradisional Indonesia dan Strategi Peningkatannya. *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXI*. Surabaya. 1–8.
- Sumit, K and Kumar, R. 2019. Role of acemannan O-acetyl group in murine radioprotection. *Carbohydrate Polymers*. 207: 460–470.
- Tjandrawinata, R.R., Maat, S., dan Noviarni. 2005. *Effect of Standardized Phyllanthus Niruri Extract On Changes in ImmunologicParameters: Correlation Between Preclinical and Clinical Studies*, *Medika* 6.
- Ukhrowi, U. 2011. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (Merremia mammosa) Terhadap Fagositosis Makrofag dan Produksi Nitrit Oksida (NO) Makrofag Studi pada mencit BALB/c yang Diinfeksi Salmonella typhimurium*. Doctoral dissertation, Diponegoro University.
- Wahyono, E dan Kusnandar. 2002. *Pemanfaatan Lidah Buaya*. Yogyakarta.
- Wijakusuma, H. 2000. Ensiklopedia Milenium. *Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia*, Jilid I. Jakarta: Prestasi.
- Zilhadia dan Wiraswati Y.C. 2012. Uji Efek Imunomodulator Katekin Gambir (*Uncaria Gambier Roxb.*) Menggunakan Parameter Bersihan Karbon Secara Invitro. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 8(3) : 181-186.

Lampiran 1. Identifikasi Lidah Buaya



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 : 218/K-ID/ANDA/VII/2020
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
Rahmawati Hasara
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 : Rahmawati Hasara
No. BP : 1504135
Instansi : STIFI YP PADANG

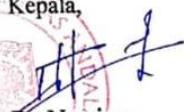
Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

No	Family	Spesies
1.	Xanthorrhoeaceae	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm.F.

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 8 Juli 2020

Kepala,

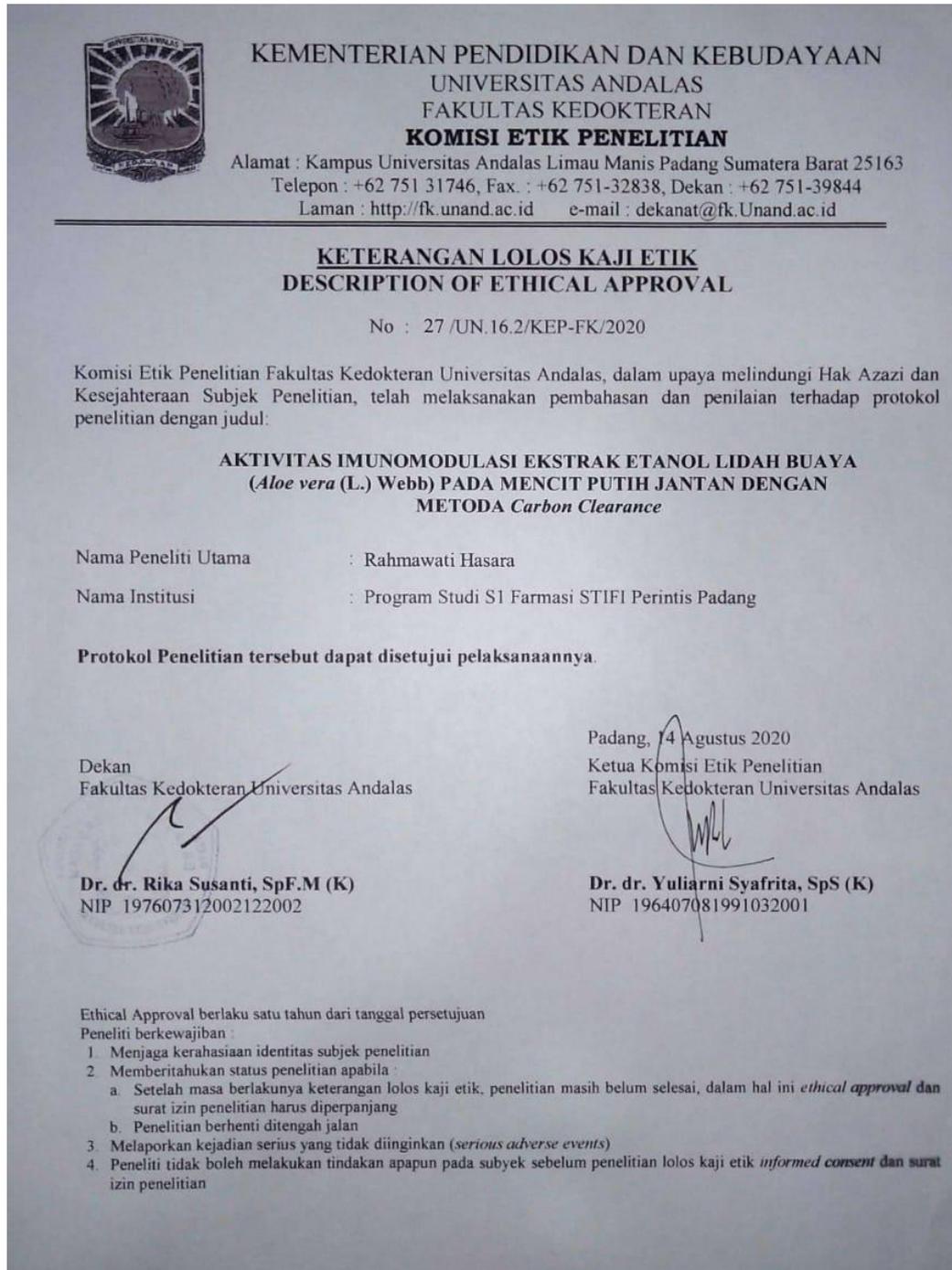

Dr. Nurainas

NIP. 196908141995122001



Gambar 6. Hasil Identifikasi Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) di Herbarium ANDA Universitas Andalas.

Lampiran 2. Ethical Clearance



The image shows a formal document titled 'KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK' (Description of Ethical Approval) from the Faculty of Medicine at Andalas University. It includes the university's logo, contact information, the title of the research, the names of the principal investigator and the approving official, and a list of ethical obligations for the researcher.

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS ANDALAS
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN**

Alamat : Kampus Universitas Andalas Limau Manis Padang Sumatera Barat 25163
Telepon : +62 751 31746, Fax. : +62 751-32838, Dekan : +62 751-39844
Laman : <http://fk.unand.ac.id> e-mail : dekanat@fk.Unand.ac.id

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL

No : 27 /UN.16.2/KEP-FK/2020

Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, dalam upaya melindungi Hak Azasi dan Kesejahteraan Subjek Penelitian, telah melaksanakan pembahasan dan penilaian terhadap protokol penelitian dengan judul:

**AKTIVITAS IMUNOMODULASI EKSTRAK ETANOL LIDAH BUAYA
(*Aloe vera* (L.) Webb) PADA MENCIT PUTIH JANTAN DENGAN
METODA *Carbon Clearance***

Nama Peneliti Utama : Rahmawati Hasara
Nama Institusi : Program Studi S1 Farmasi STIFI Perintis Padang

Protokol Penelitian tersebut dapat disetujui pelaksanaannya.

Padang, 14 Agustus 2020
Ketua Komisi Etik Penelitian
Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

Dekan
Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

Dr. dr. Rika Susanti, SpF.M (K)
NIP 197607312002122002

Dr. dr. Yuliarni Syafrita, SpS (K)
NIP 196407081991032001

Ethical Approval berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan
Peneliti berkewajiban :

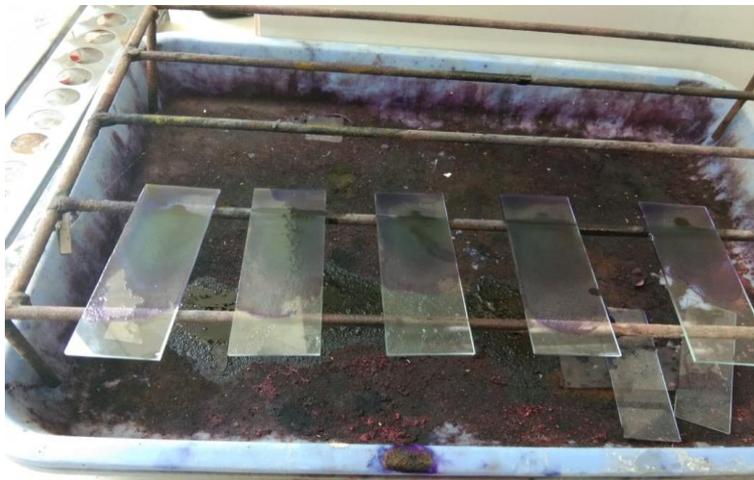
1. Menjaga kerahasiaan identitas subjek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila :
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical approval* dan surat izin penelitian harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti ditengah jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik *informed consent* dan surat izin penelitian

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

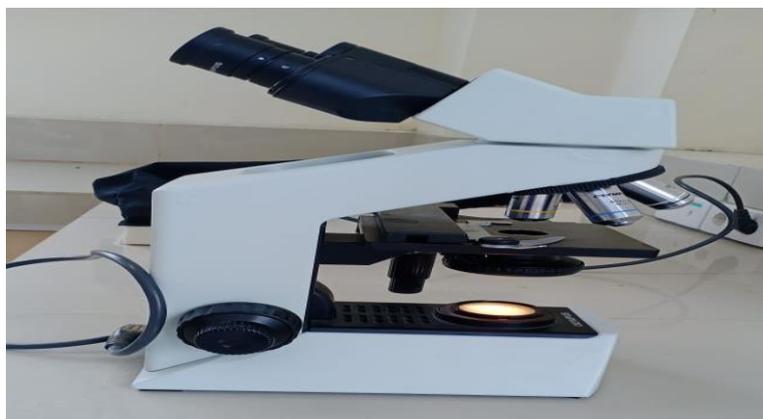
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



Gambar 8. Lidah Buaya (*Aloe vera* L.)

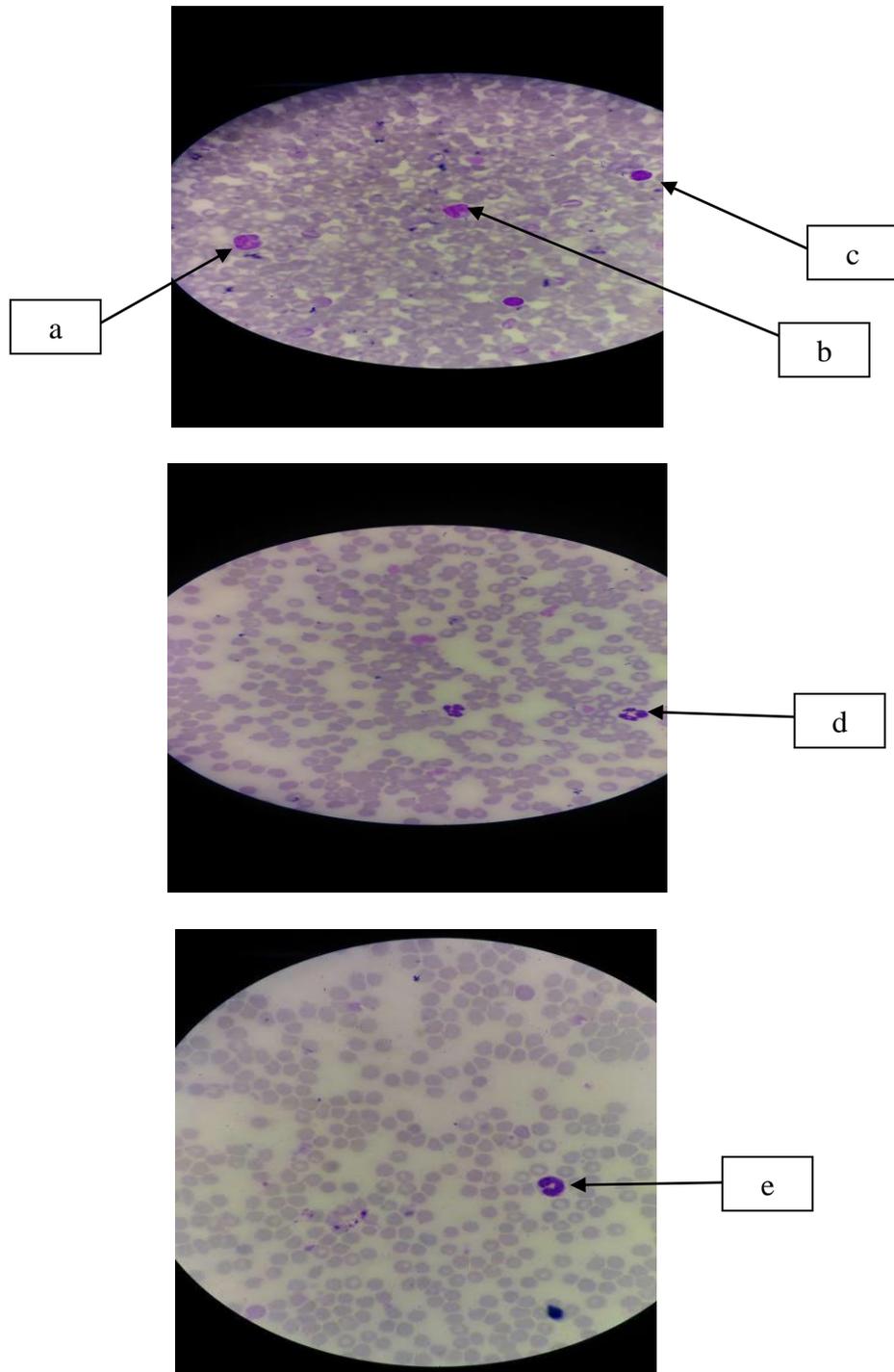


Gambar 9. Preparat Hapusan Darah



Gambar 10. Mikroskop

Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 11. Bentuk jenis sel leukosit

a. Eosinofil
b. Monosit

c. Limfosit
d. Neutrofil batang

e. Neutrofil segmen

Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 12. Haemacytometer



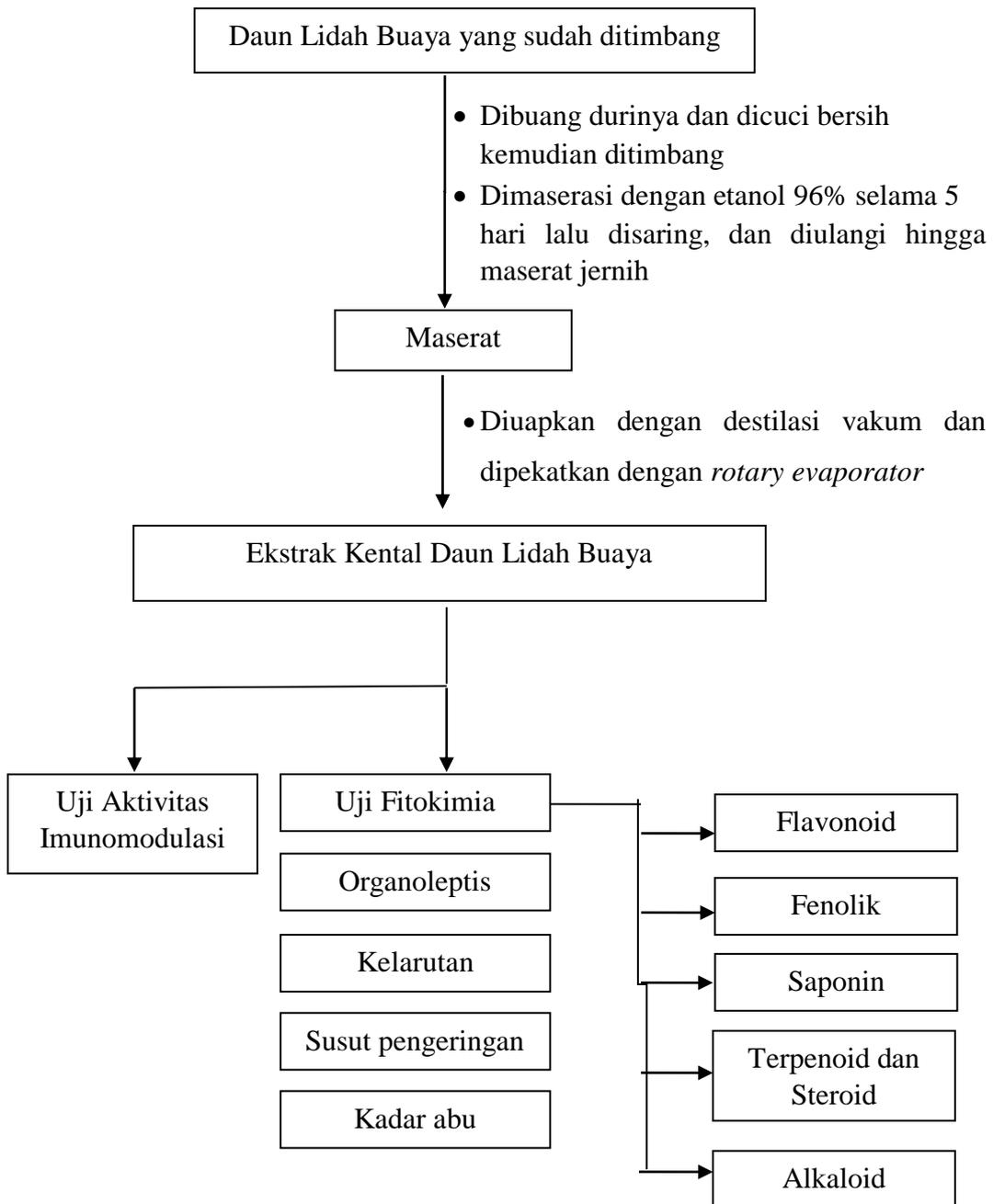
Gambar 13. Spektrofotometer UV-Vis

Lampiran 3. (Lanjutan)



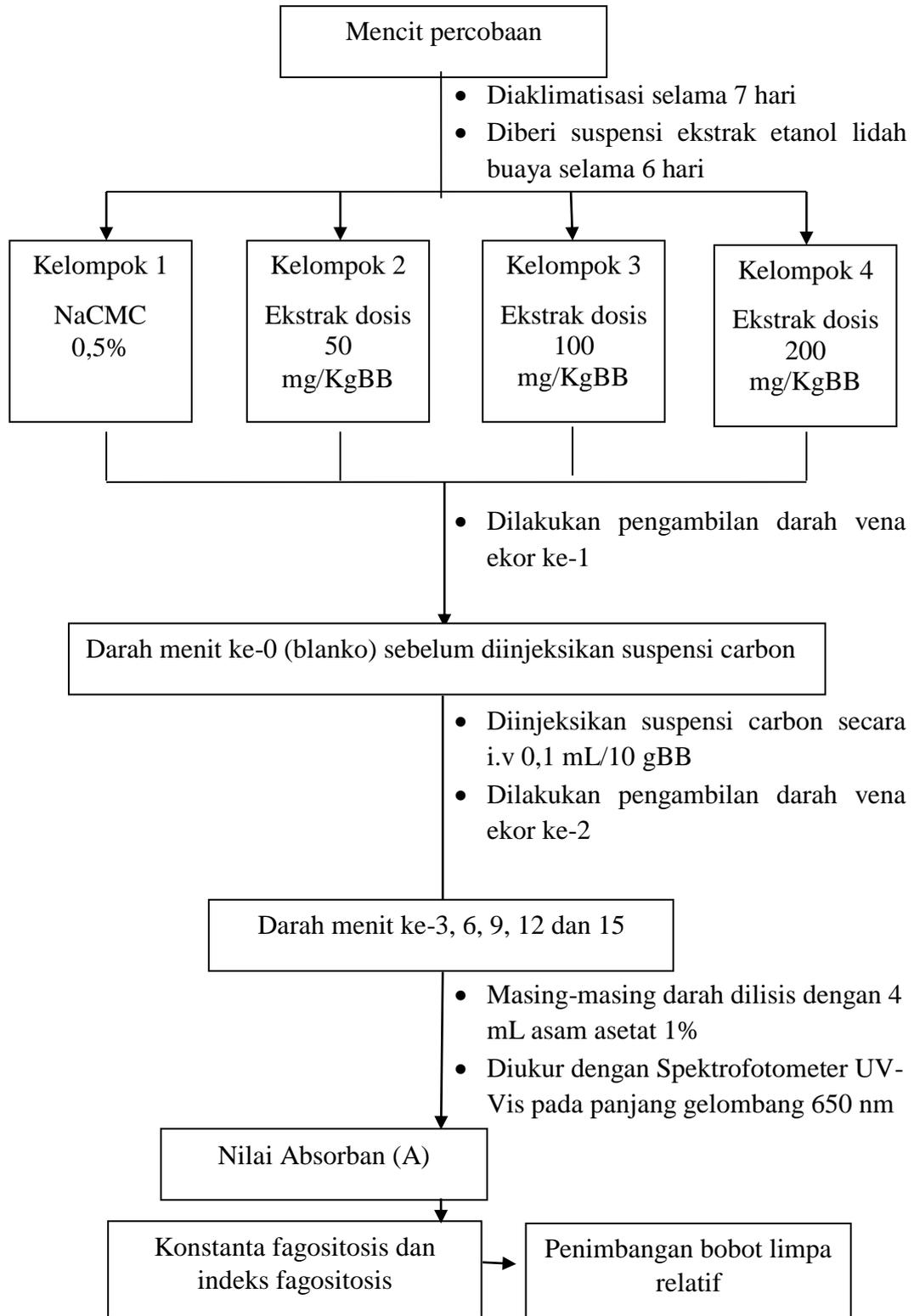
Gambar 14. Limpa Hewan Percobaan

Lampiran 4. Skema Kerja



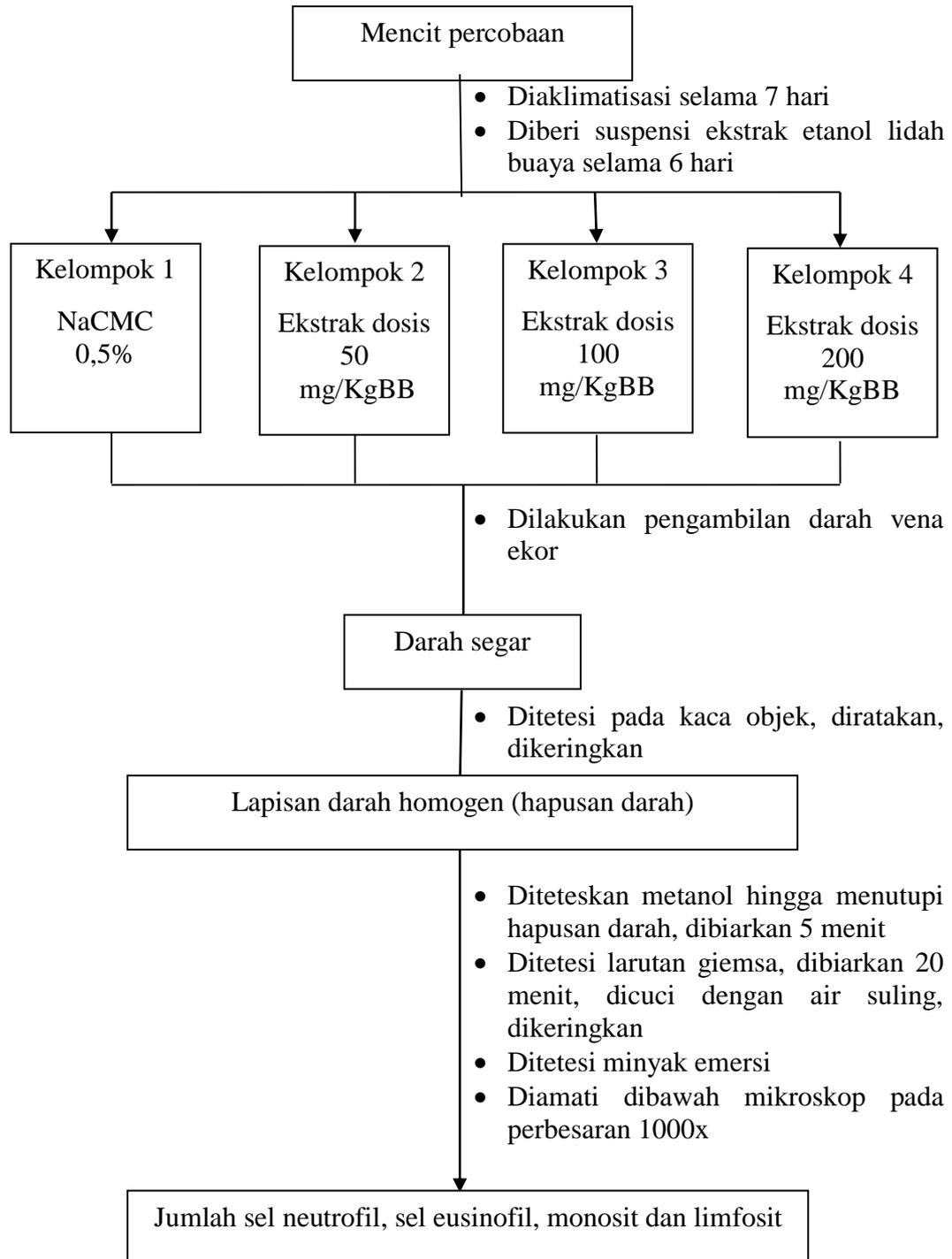
Gambar 15. Skema Kerja Pengolahan Ekstrak Etanol Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* L.).

Lampiran 4. (Lanjutan)



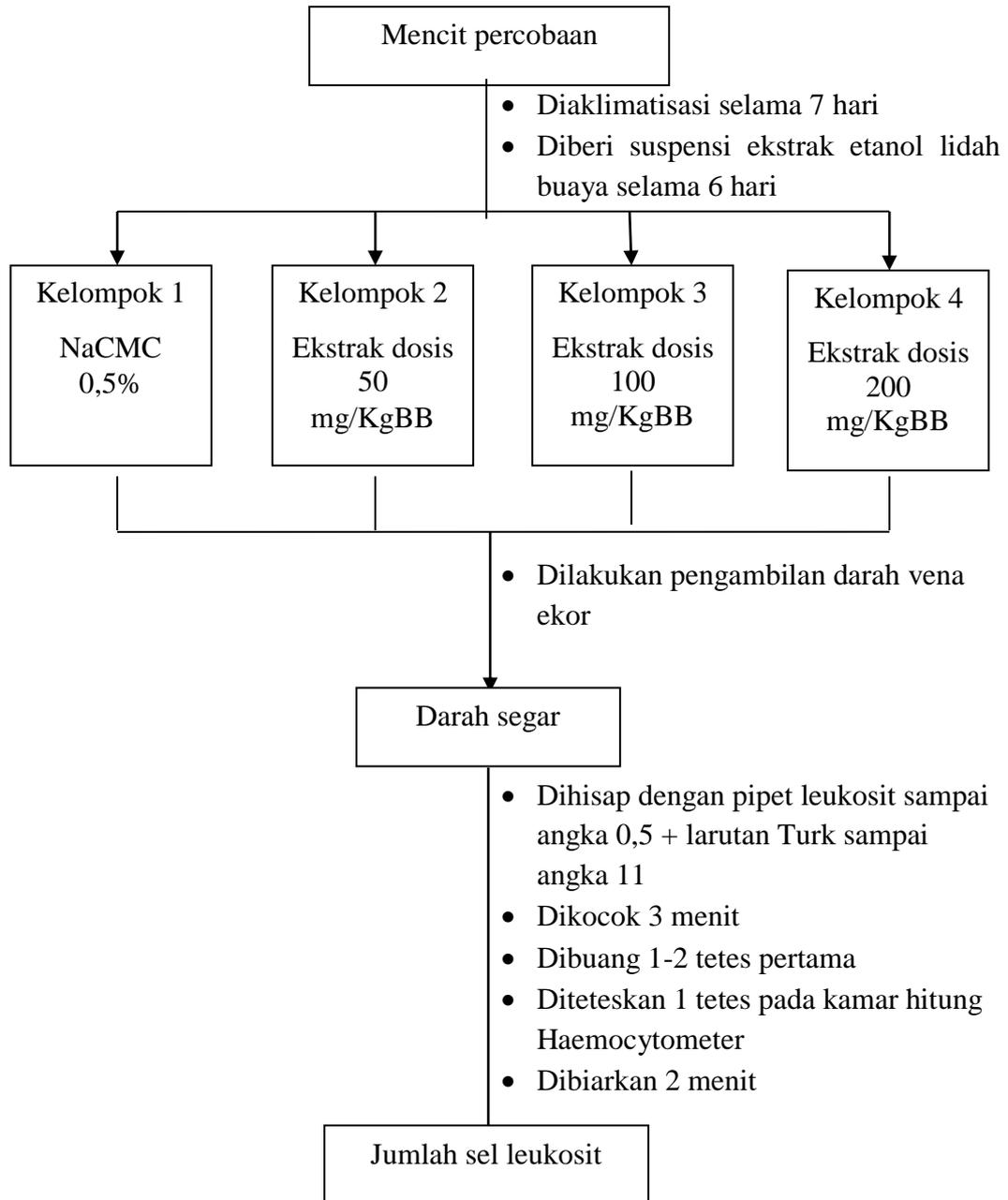
Gambar 16. Skema Kerja Uji Fagositosis Dengan Metode *Carbon Clearance*

Lampiran 4. (Lanjutan)



Gambar 17. Skema Kerja Penentuan Komponen Jumlah Sel Leukosit Dengan Metode Hapusan Darah

Lampiran 4. (Lanjutan)



Gambar 18. Skema Kerja Perhitungan Total Sel Leukosit Darah

Lampiran 5. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* (L.) Webb)

Tabel 2. Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.)

Berat sampel segar	Berat ekstrak kental	Rendemen
8000 g	90,27 g	1,12%

Perhitungan rendemen :

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat sampel segar}} \times 100 \% \\ &= \frac{90,27 \text{ g}}{8000 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 1,12 \%\end{aligned}$$

Lampiran 5. (Lanjutan)

Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.)

No	Pemeriksaan	Persyaratan	Pengamatan	Kesimpulan
1.	Organoleptis <ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Warna • Bau • Rasa 		Cairan kental Coklat kehitaman Khas aromatis Pahit	
2.	Kelarutan <ul style="list-style-type: none"> • Dalam air • Dalam alkohol 96% 	Larut : 11-25 Mudah larut : 1-10 (Depkes RI, 2014)	Larut (1:25 ml) Mudah larut (1:8,8 ml)	
3.	Kadar abu	Tidak lebih dari 4,9% (Depkes RI, 2008)	4,48 %	
4.	Susut pengeringan		8,4 %	
5.	Identifikasi metabolit sekunder ekstrak lidah buaya. <ul style="list-style-type: none"> • Flavonoid • Fenolik • Steroid/terpenoid • Saponin • Alkaloid 		Timbul warna merah Berwarna biru Berwarna biru tidak merah Adanya busa Endapan putih	+ + +/- + +

Lampiran 5. (Lanjutan)

Tabel 4. Hasil Pemeriksaan Susut Pengeringan Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera* L.)

Berat krus kosong (W ₀)	Krus + ekstrak sebelum di oven (W ₁)	Krus + ekstrak setelah di oven (W ₂)	% Susut pengeringan
33,60 g	34,63 g	34,57 g	5,83 %

Perhitungan susut pengeringan ekstrak :

$$\begin{aligned}\text{Susut pengeringan} &= \frac{(W_1 - W_0) - (W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100\% \\ &= \frac{(34,63 \text{ g} - 33,60 \text{ g}) - (34,57 \text{ g} - 33,60 \text{ g})}{(34,63 \text{ g} - 33,60 \text{ g})} \times 100\% \\ &= \frac{1,03 \text{ g} - 0,97 \text{ g}}{1,03 \text{ g}} \times 100\% \\ &= \frac{0,06 \text{ g}}{1,03 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 5,83 \%\end{aligned}$$

Lampiran 5. (Lanjutan)

Tabel 5. Hasil Pemeriksaan Kadar Abu Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.)

Berat krus kosong (W ₀)	Berat krus + ekstrak sebelum pemijaran (W ₁)	Berat krus + ekstrak setelah di furnace (W ₂)	% Kadar abu
34,6782 g	36,6781 g	34,7619 g	4,48 %

Perhitungan kadar abu ekstrak :

$$\begin{aligned}\text{Kadar abu} &= \frac{(W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100\% \\ &= \frac{34,7619 \text{ g} - 34,6782 \text{ g}}{36,6781 \text{ g} - 34,6782 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,0837 \text{ g}}{1,9999 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 4,48 \%\end{aligned}$$

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

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

No.	Berat tinta cina (g)		Kadar karbon (%)
	Berat basah	Berat kering	
1	5,0052	1,5317	30,6021%
2	5,0067	1,5420	30,7987%
3	5,0077	1,5714	31,3796%
Rata-rata			30,9268%

Perhitungan kadar karbon

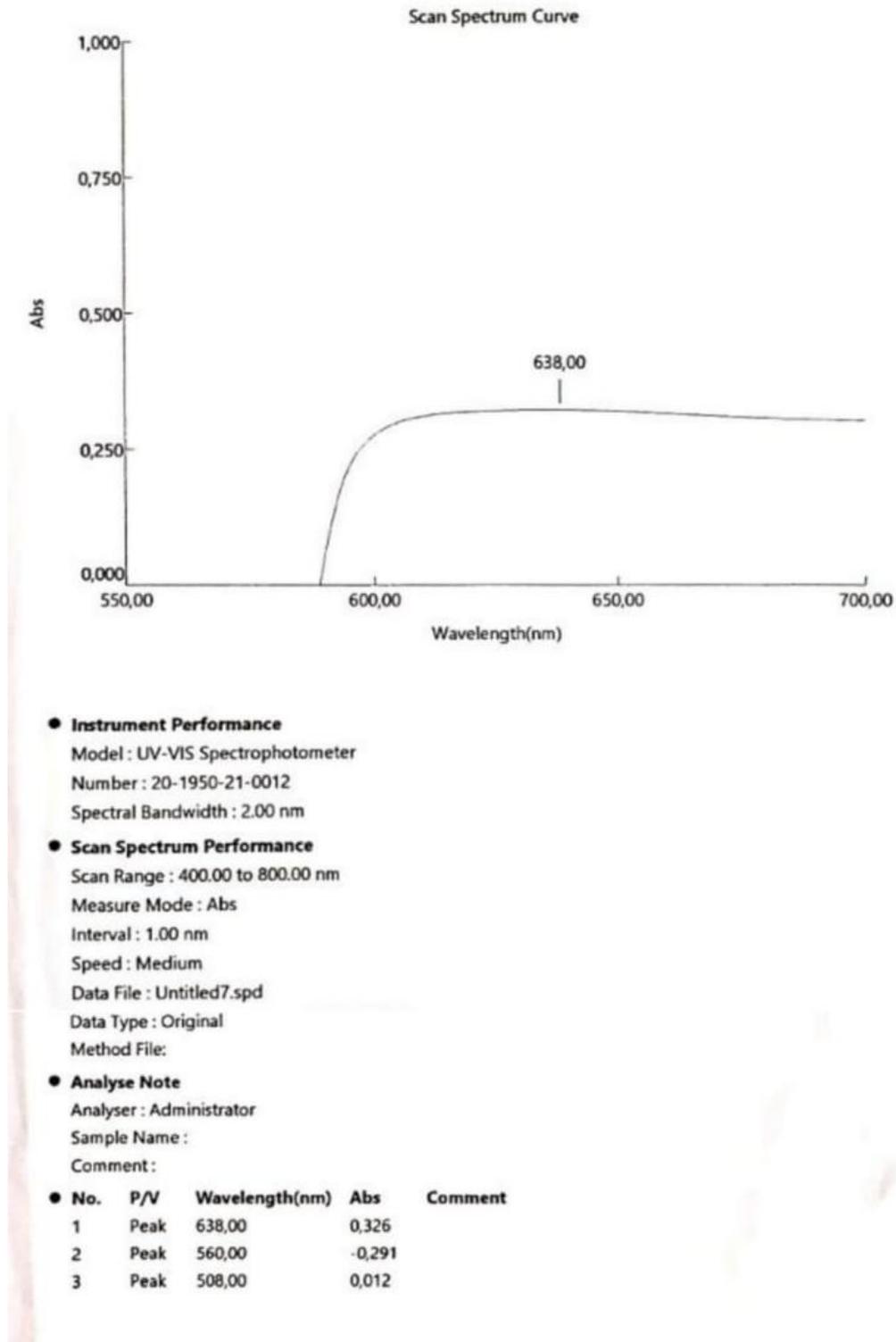
Berat tinta cina basah = 5,0052

Berat tinta cina setelah dikeringkan = 1,5317

Rumus :

$$\begin{aligned} \text{Kadar} &= \frac{\text{Tinta kering}}{\text{Tinta basah}} \times 100 \% \\ &= \frac{1,5317}{5,0052} \times 100 \% \\ &= 30,6021 \% \end{aligned}$$

Lampiran 6. (Lanjutan)

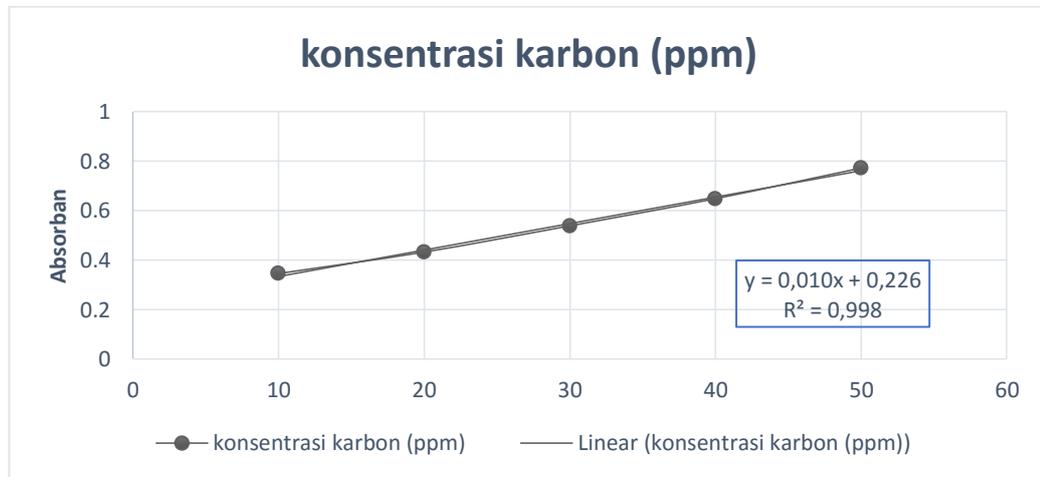


Gambar 19. Pengukuran Panjang Gelombang Serapan Maksimum Karbon

Lampiran 6. (Lanjutan)

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

No	Konsentrasi Karbon ($\mu\text{g/mL}$)	Nilai absorban
1	10	0.345
2	20	0.432
3	30	0.538
4	40	0.648
5	50	0.772



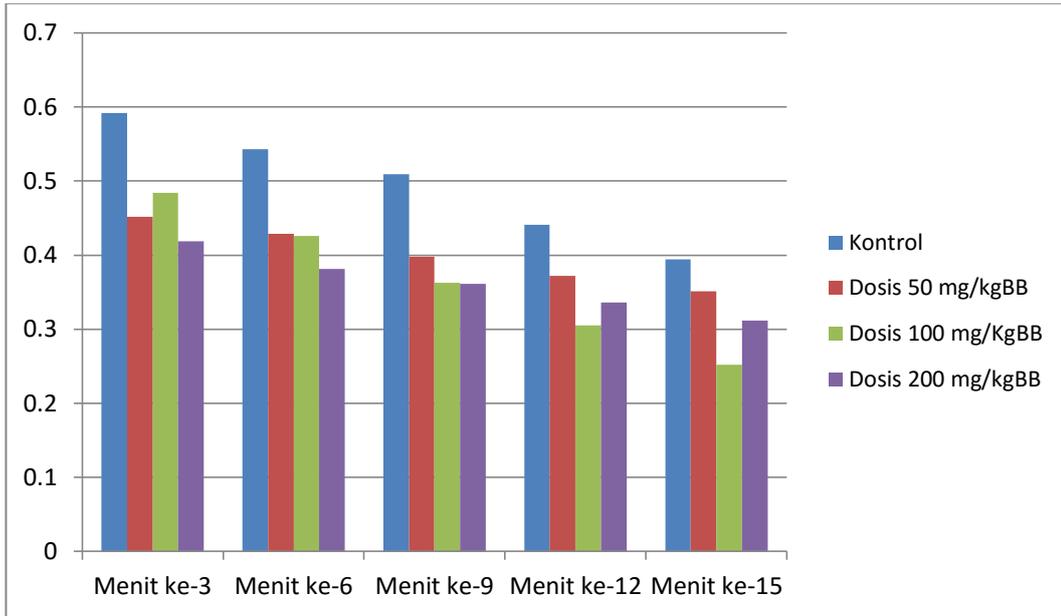
Gambar 20. Grafik Kurva Kalibrasi Karbon Dalam Darah Mencit Putih Jantan Pada Panjang Gelombang 638 nm.

Lampiran 6. (Lanjutan)

Tabel 8. Nilai Absorban Dari Darah Mencit Putih Jantan Yang Mengandung Karbon Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* L.)

Dosis	Waktu	Absorban					Rata-rata	±SD
		1	2	3	4	5		
Kelompok kontrol	3	0,595	0,580	0,613	0,650	0,525	0,592	0,045
	6	0,536	0,575	0,535	0,591	0,478	0,543	0,043
	9	0,587	0,481	0,481	0,540	0,457	0,509	0,053
	12	0,488	0,425	0,447	0,455	0,391	0,441	0,036
	15	0,432	0,398	0,392	0,406	0,345	0,394	0,031
Dosis 50 mg/Kg	3	0,384	0,521	0,429	0,496	0,430	0,452	0,055
	6	0,369	0,494	0,410	0,484	0,388	0,429	0,057
	9	0,325	0,464	0,381	0,446	0,377	0,398	0,056
	12	0,297	0,394	0,354	0,441	0,376	0,372	0,052
	15	0,264	0,362	0,331	0,435	0,364	0,351	0,061
Dosis 100 mg/Kg	3	0,398	0,587	0,447	0,526	0,462	0,484	0,073
	6	0,345	0,511	0,391	0,448	0,437	0,426	0,062
	9	0,290	0,455	0,356	0,350	0,366	0,363	0,059
	12	0,210	0,382	0,299	0,305	0,330	0,305	0,062
	15	0,181	0,336	0,221	0,251	0,274	0,252	0,058
Dosis 200 mg/Kg	3	0,376	0,512	0,398	0,432	0,379	0,419	0,056
	6	0,356	0,486	0,331	0,393	0,343	0,381	0,062
	9	0,343	0,463	0,315	0,382	0,302	0,361	0,064
	12	0,336	0,453	0,307	0,326	0,260	0,336	0,071
	15	0,317	0,424	0,277	0,303	0,239	0,312	0,069

Lampiran 6 (lanjutan)



Gambar 21. Diagram Absorban Suspensi Karbon Terhadap Waktu Pada Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Selama 6 hari.

Lampiran 6. (Lanjutan)

Tabel 9. Harga Konstanta Fagositosis Dari Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Selama 6 hari.

Konstanta fagositosis				
Waktu (menit)	Kontrol	Dosis 50 mg/kgBB	Dosis 100 mg/kgBB	Dosis 200 mg/kgBB
3	0,075	0,114	0,105	0,125
6	0,044	0,061	0,061	0,069
9	0,032	0,044	0,048	0,049
12	0,029	0,035	0,042	0,039
15	0,026	0,030	0,039	0,033
Rata-rata	0,041	0,056	0,059	0,063
±SD	0,0200	0,0340	0,0270	0,0372

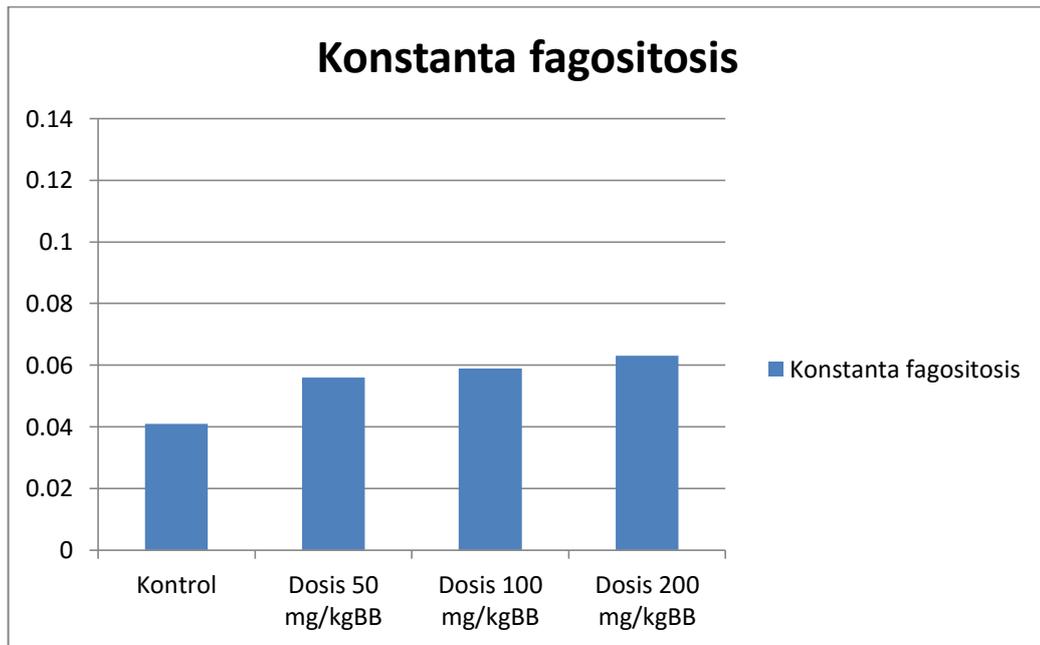
Contoh Perhitungan Konstanta Fagositosis adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 K &= \frac{\text{Log } A(n) - \text{Log } A(n-1)}{t(n-1) - t(n)} \\
 &= \frac{\text{Log } 0,592(1) - \text{Log } 0,592(1-1)}{3(1-1) - 3(1)} \\
 &= \frac{-0,227 - 0}{0 - 3} \\
 &= \frac{-0,245}{-3} \\
 &= 0,075
 \end{aligned}$$

Keterangan :

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

Lampiran 6. (Lanjutan)



Gambar 22. Diagram Konstanta Fagositosis Dari Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) Selama 6 hari.

Lampiran 6. (Lanjutan)

Tabel 10. Nilai Indeks Fagositosis Dari Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Selama 6 hari.

Indeks Fagositosis				
Waktu(menit)	Kontrol	Dosis 50 mg/kgBB	Dosis 100 mg/kgBB	Dosis 200 mg/kgBB
3	1,00	2,78	2,56	3,04
6	1,00	1,48	1,48	1,68
9	1,00	1,07	1,17	1,19
12	1,00	0,85	1,02	0,95
15	1,00	0,73	0,95	0,80
Rata-rata	1,00	1,38	1,43	1,53
±SD	0,00000	0,8320	0,6605	0,9065

Contoh perhitungan harga indeks fagositosis adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned}\text{Indeks fagositosis} &= \frac{\text{Konstanta fagositosis mencit x menit ke (t)}}{\text{konstanta fagositosis kontrol menit ke (t)}} \\ &= \frac{0,114}{0,041} \\ &= 2,780\end{aligned}$$

Keterangan :

IF = Index Fagositosis Mencit

X = Mencit yang sudah diperlakukan dan ditentukan harga konstanta fagositosisnya

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

Lampiran 6. (Lanjutan)

Tabel 11. Uji Anova Dua Arah Dan Uji Lanjutan Duncan Indeks Fagositosis Dari Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Selama 6 hari

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Indeks fagositosis

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.599 ^a	7	.371	55.349	.000
Intercept	39.396	1	39.396	5873.462	.000
waktu	.042	4	.011	1.567	.246
kelompok	2.557	3	.852	127.059	.000
Error	.080	12	.007		
Total	42.076	20			
Corrected Total	2.679	19			

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

Indeks fagositosis

Duncan^{a,b}

variasi dosis	N	Subset		
		1	2	3
kontrol	5	1.0000		
dosis 50 mg/kgBB	5	1.1120		
dosis 100 mg/kgBB	5		1.6460	
dosis 200 mg/kgBB	5			1.8560
Sig.		.052	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .007.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

b. Alpha = 0.05.

Lampiran 7. Hasil perhitungan jumlah total sel leukosit

Tabel 12. Jumlah Total Leukosit Pada Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) Selama 6 Hari Dengan Hemocytometer.

No	Total leukosit			
	Kontrol (µL)	Dosis 50 mg/kgBB (µL)	Dosis 100 mg/kgBB (µL)	Dosis 200 mg/kgBB (µL)
1	5.900	6.500	6.850	11.000
2	6.250	5.750	6.700	8.300
3	5.450	6.900	6.800	8.250
4	5.000	6.650	8.200	7.750
5	6.500	5.500	10.500	6.600
Rata – rata	5.820	6.260	7.810	8.380

Tabel 13. Deskriptif, ANOVA Satu Arah Dan Uji Lanjutan Duncan Jumlah Total Leukosit Pada Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) Selama 6 hari

Descriptives

Jumlah total sel leukosit

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Kontrol	5		
Dosis 50 mg/kgBB	5	6240.00	588.855	263.344	5508.84	6971.16	5500	6900
Dosis 100 mg/kgBB	5	7810.00	1624.962	726.705	5792.34	9827.66	6700	10500
Dosis 200 mg/kgBB	5	8380.00	1616.555	722.945	6372.78	10387.22	6600	11000
Total	20	7062.50	1563.387	349.584	6330.81	7794.19	5000	11000

Lampiran 7. (Lanjutan)

ANOVA

Jumlah total sel leukosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22574375.000	3	7524791.667	5.045	.012
Within Groups	23865000.000	16	1491562.500		
Total	46439375.000	19			

Jumlah total sel leukosit

Duncan^a

kelompok hewan percobaan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kontrol	5	5820.00		
Dosis 50 mg/kgBB	5	6240.00	6240.00	
Dosis 100 mg/kgBB	5		7810.00	7810.00
Dosis 200 mg/kgBB	5			8380.00
Sig.		.594	.059	.471

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 8. Hasil Perhitungan Jumlah Jenis Sel Leukosit

Tabel 14. Jumlah Jenis Sel Leukosit Pada Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Selama 6 hari.

Dosis ekstrak (mg/kgBB)	No	Jumlah jenis sel leukosit				
		Eosinofil	Neutrofil batang	Neutrofil segmen	Limfosit	Monosit
NaCMC 0,5%	1	1	4	59	32	4
	2	1	3	50	35	5
	3	2	4	50	12	4
	4	1	5	44	23	4
	5	1	3	50	22	4
	X±	1,2	3,8	50,6	24,8	4,2
	SD	0,200	0,374	2,400	4,067	0,200
Dosis 50 mg/kg BB	1	1	6	47	42	4
	2	2	8	50	26	5
	3	2	7	50	28	5
	4	2	9	53	31	4
	5	2	7	58	32	4
	X±	1,8	7,4	51,6	31,80	4,4
	SD	0,200	0,510	1,860	2,764	0,245
Dosis 100 mg/kg BB	1	2	10	62	22	4
	2	3	9	56	35	6
	3	3	8	62	48	5
	4	1	7	49	40	4
	5	2	8	52	38	5
	X±	2,2	8,4	56,2	36,60	4,8
	SD	0,374	0,510	2,615	4,238	0,374
Dosis 200 mg/kg BB	1	3	9	48	36	4
	2	4	10	61	38	6
	3	3	9	68	40	7
	4	3	8	69	43	6
	5	2	10	67	35	4
	X±	3	9,2	62,6	38,40	5,4
	SD	0,316	0,374	3,906	1,435	0,600

Lampiran 8. (Lanjutan)

Tabel 15. Deskriptif, ANOVA Satu Arah Dan Uji Lanjutan Duncan Eosinofil Pada Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Selama 6 hari.

Descriptives

Eosinofil

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Kontrol	5		
Dosis 50 mg/kgBB	5	1.80	.447	.200	1.24	2.36	1	2
Dosis 100 mg/kgBB	5	2.20	.837	.374	1.16	3.24	1	3
Dosis 200 mg/kgBB	5	3.00	.707	.316	2.12	3.88	2	4
Total	20	2.05	.887	.198	1.63	2.47	1	4

ANOVA

Eosinofil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.550	3	2.850	7.125	.003
Within Groups	6.400	16	.400		
Total	14.950	19			

Lampiran 8. (Lanjutan)

Eosinofil

Duncan^a

kelompok hewan percobaan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kontrol	5	1.20		
Dosis 50 mg/kgBB	5	1.80	1.80	
Dosis 100 mg/kgBB	5		2.20	2.20
Dosis 200 mg/kgBB	5			3.00
Sig.		.153	.332	.063

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 8. (Lanjutan)

Tabel 16. Deskriptif, ANOVA Satu Arah Dan Uji Lanjutan Duncan Neutrofil Batang Pada Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Selama 6 hari.

Descriptives

neutrofil batang

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	5	3.80	.837	.374	2.76	4.84	3	5
Dosis 50 mg/kgBB	5	7.40	1.140	.510	5.98	8.82	6	9
Dosis 100 mg/kgBB	5	8.40	1.140	.510	6.98	9.82	7	10
Dosis 200 mg/kgBB	5	9.20	.837	.374	8.16	10.24	8	10
Total	20	7.20	2.308	.516	6.12	8.28	3	10

ANOVA

neutrofil batang

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	85.200	3	28.400	28.400	.000
Within Groups	16.000	16	1.000		
Total	101.200	19			

Lampiran 8. (Lanjutan)

neutrofil batang

Duncan^a

kelompok hewan percobaan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kontrol	5	3.80		
Dosis 50 mg/kgBB	5		7.40	
Dosis 100 mg/kgBB	5		8.40	8.40
Dosis 200 mg/kgBB	5			9.20
Sig.		1.000	.133	.224

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 8. (Lanjutan)

Tabel 17. Deskriptif, ANOVA Satu Arah Dan Uji Lanjutan Duncan Neutrofil Segmen Pada Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) Selama 6 hari.

Descriptives

neutrofil segmen

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	5	50.60	5.367	2.400	43.94	57.26	44	59
Dosis 50 mg/kgBB	5	51.60	4.159	1.860	46.44	56.76	47	58
Dosis 100 mg/kgBB	5	56.20	5.848	2.615	48.94	63.46	49	62
Dosis 200 mg/kgBB	5	62.60	8.735	3.906	51.75	73.45	48	69
Total	20	55.25	7.525	1.683	51.73	58.77	44	69

ANOVA

neutrofil segmen

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	449.350	3	149.783	3.826	.031
Within Groups	626.400	16	39.150		
Total	1075.750	19			

Lampiran 8. (Lanjutan)

neutrofil segmen

Duncan^a

kelompok hewan percobaan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol	5	50.60	
Dosis 50 mg/kgBB	5	51.60	
Dosis 100 mg/kgBB	5	56.20	56.20
Dosis 200 mg/kgBB	5		62.60
Sig.		.198	.125

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 8. (Lanjutan)

Tabel 18. Deskriptif, ANOVA Satu Arah Dan Uji Lanjutan Duncan Limfosit Pada Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Selama 6 hari.

Descriptives

limfosit

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Kontrol	5		
dosis 50 mg/kgBB	5	31.80	6.181	2.764	24.13	39.47	26	42
dosis 100 mg/kgBB	5	36.60	9.476	4.238	24.83	48.37	22	48
dosis 200 mg/kgBB	5	38.40	3.209	1.435	34.42	42.38	35	43
Total	20	32.90	8.699	1.945	28.83	36.97	12	48

ANOVA

limfosit

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	553.800	3	184.600	3.341	.046
Within Groups	884.000	16	55.250		
Total	1437.800	19			

Lampiran 8. (Lanjutan)

Limfosit

Duncan^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kontrol	5	24.80	
dosis 50 mg/kgBB	5	31.80	31.80
dosis 100 mg/kgBB	5		36.60
dosis 200 mg/kgBB	5		38.40
Sig.		.156	.201

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 8. (Lanjutan)

Tabel 19. Deskriptif, ANOVA Satu Arah Dan Uji Lanjutan Duncan Monosit Pada Darah Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Selama 6 hari.

Descriptives

monosit

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					kontrol	5		
dosis 50 mg/kgBB	5	4.40	.548	.245	3.72	5.08	4	5
dosis 100 mg/kgBB	5	4.80	.837	.374	3.76	5.84	4	6
dosis 200 mg/kgBB	5	5.40	1.342	.600	3.73	7.07	4	7
Total	20	4.70	.923	.206	4.27	5.13	4	7

ANOVA

monosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.200	3	1.400	1.867	.176
Within Groups	12.000	16	.750		
Total	16.200	19			

Lampiran 9. Hasil perhitungan bobot limpa relatif

Tabel 19. Bobot Limpa Relatif Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Selama 6 hari.

Dosis	Hewan	Bobot Badan (g)	Bobot Limfa	Bobot Limpa Relatif (%)
Kontrol negatif	1	30,92	0,09	0,29
	2	25,38	0,07	0,30
	3	29,98	0,08	0,29
	4	30,02	0,08	0,27
	5	31,02	0,08	0,26
	Rata-rata			0,28
	±SD			0,016
50 mg/kg BB	1	28,72	0,09	0,31
	2	30,98	0,09	0,31
	3	29,40	0,09	0,32
	4	30,02	0,09	0,30
	5	27,79	0,08	0,31
	Rata-rata			0,31
	±SD			0,007
100 mg/kg BB	1	30,11	0,11	0,37
	2	29,40	0,10	0,36
	3	26,05	0,09	0,34
	4	27,40	0,09	0,34
	5	30,86	0,10	0,32
	Rata-rata			0,34
	±SD			0,019
200 mg/kg BB	1	26,17	0,10	0,39
	2	28,20	0,08	0,30
	3	29,40	0,13	0,44
	4	29,67	0,10	0,35
	5	26,92	0,09	0,36
	Rata-rata			0,36
	±SD			0,051

Lampiran 9. (Lanjutan)

Tabel 20. Deskriptif, ANOVA Satu Arah dan Duncan Bobot Limpa Relatif Pada Mencit Putih Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Selama 6 hari.

Descriptives

Berat limpa relatif

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	5	.2820	.01643	.00735	.2616	.3024	.26	.30
Dosis 50 mg/kgBB	5	.3100	.00707	.00316	.3012	.3188	.30	.32
Dosis 100 mg/kgBB	5	.3460	.01949	.00872	.3218	.3702	.32	.37
Dosis 200 mg/kgBB	5	.3680	.05167	.02311	.3038	.4322	.30	.44
Total	20	.3265	.04308	.00963	.3063	.3467	.26	.44

ANOVA

Berat limpa relatif

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.022	3	.007	8.615	.001
Within Groups	.013	16	.001		
Total	.035	19			

Lampiran 9. (Lanjutan)

Berat limpa relatif

Duncan^a

kelompok hewan percobaan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kontrol	5	.2820		
Dosis 50 mg/kgBB	5	.3100	.3100	
Dosis 100 mg/kgBB	5		.3460	.3460
Dosis 200 mg/kgBB	5			.3680
Sig.		.147	.068	.248

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.