

**UJI EFEK IMUNOMODULATOR DARI EKSTRAK
DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.) DENGAN
METODA *CARBON CLEARANCE* TERHADAP
MENCIT PUTIH JANTAN**



FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG

2021

PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Febryan Ilham Saputra

No. BP : 1611013029

Judul Skripsi : “Uji Efek Imunomodulator dari Ekstrak Daun Kersen
(*Muntingia calabura* L.) Dengan Metoda *Carbon Clearance*
Terhadap Mencit Putih Jantan.”

Dengan ini menyatakan bahwa:

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

Padang, 22 Maret 2022

Febryan Ilham Saputra

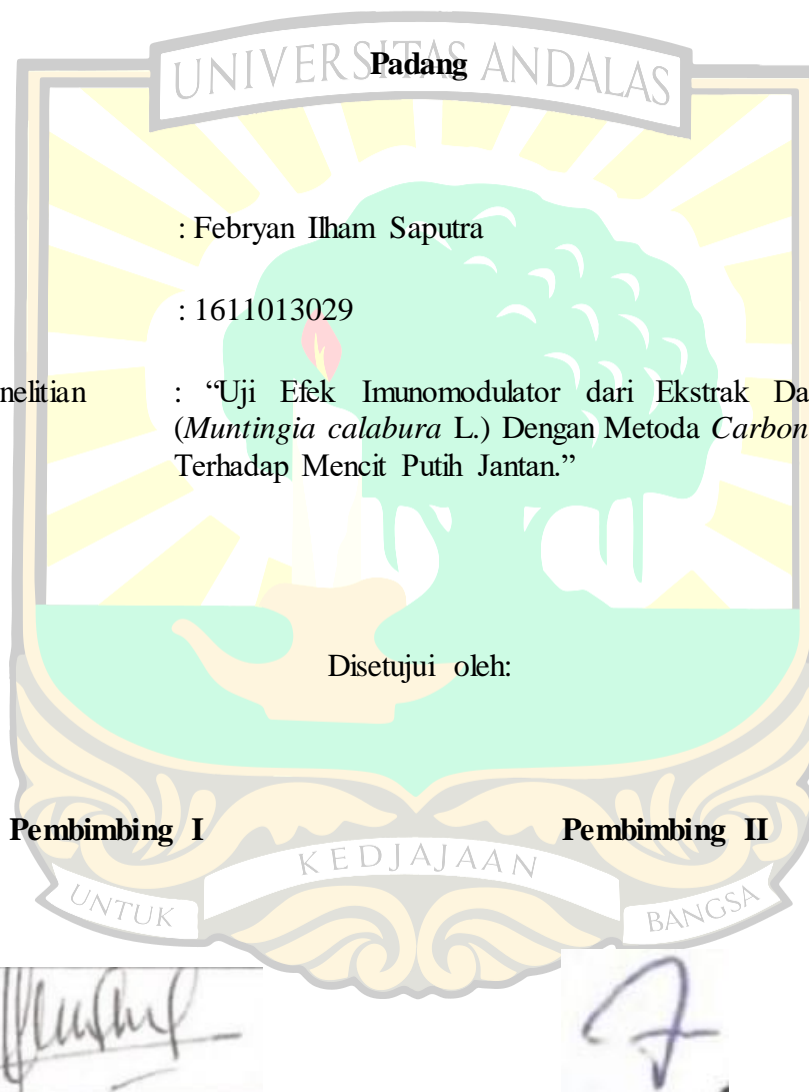
HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menempuh

Ujian Sarjana Farmasi

Program Sarjana (S1) Farmasi pada Fakultas Farmasi

Universitas Andalas



Nama : Febryan Ilham Saputra

NIM : 1611013029

Judul Penelitian : “Uji Efek Imunomodulator dari Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Dengan Metoda *Carbon Clearance* Terhadap Mencit Putih Jantan.”

Disetujui oleh:

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. apt. Yufri Aldi, M.Si
NIP. 196511231991031002

Dr. apt. Meri Susanti, M.Farm
NIP. 197705282008122002


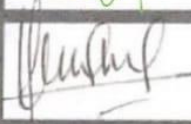

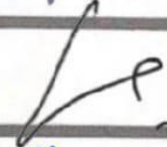

Skripsi ini telah dipertahankan pada Seminar Hasil Penelitian

Fakultas Farmasi

Universitas Andalas

Padang

Pada tanggal : 30 November 2021

No	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Prof. Dr. apt. Almahdy A	Ketua	
2	Prof. Dr. apt. Yufri Aldi, M.Si	Pembimbing 1	
3	Dr. apt. Meri Susanti, M.Farm	Pembimbing 2	
4	apt. Rahmi Yosmar, S.Farm. M.Farm	Anggota	
5	Dr. Netty Suharti, MS	Anggota	

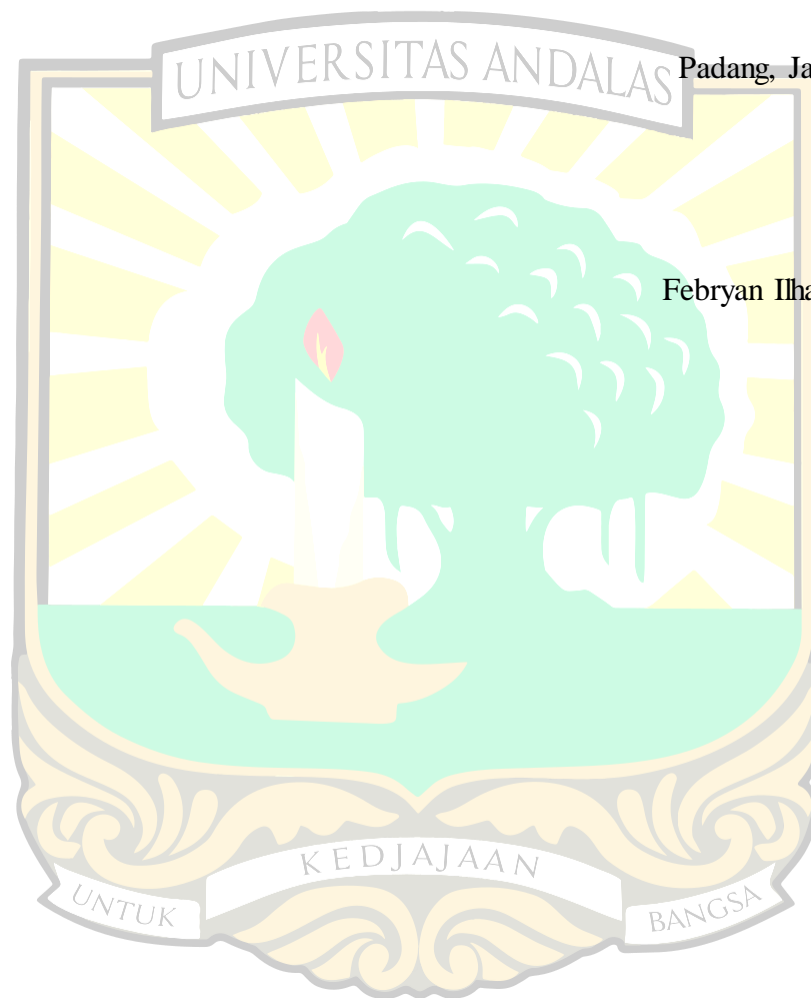
KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini yang berjudul **“Uji Efek Imunomodulator Dari Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*) Dengan Metoda Carbon Clearance Terhadap Mencit Putih Jantan”**. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat menyelesaikan program pendidikan Strata Satu pada Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang.

Selesaiannya penulisan skripsi ini tentunya tidak lepas dari do'a, dukungan dan semangat dari berbagai pihak. Penulis ucapkan terima kasih yang tulus kepada:

1. Bapak Prof. Dr. apt Yufri Aldi, M.Si dan ibu Dr. apt. Meri Susanti, M.Farm selaku dosen pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing, mengarahkan, memberi nasihat, dan memberikan bantuan dengan sabar kepada penulis selama penelitian dan penyelesaian skripsi.
2. Ibu Prof. Dr. apt. Fatma Sri Wahyuni selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
3. Ibu Prof. Dr. apt. rer. nat. Dian Handayani selaku dosen penasihat akademik yang telah memberikan nasihat, saran, bimbingan kepada penulis selama menjalani masa perkuliahan.
4. Orang tua dan keluarga tercinta atas doa dan dukungannya.
5. Bapak dan ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Andalas yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan nasihat selama penulis melaksanakan perkuliahan.
6. Rekan kerja penulis yaitu Efrian Shafardi, Moch Taqwim, Rewina Aurelia serta teman seperjuangan yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu dan memberi semangat selama masa perkuliahan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna dan tidak terlepas dari kekurangan baik dari isi maupun penulisnya. Maka dengan segala kerendahan hati, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan pada masa mendatang.



Padang, Januari 2021

Penulis,

Febryan Ilham Saputra

ABSTRAK

UJI EFEK IMUNOMODULATOR DARI EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.) DENGAN METODA *CARBON CLEARANCE* TERHADAP MENCIT PUTIH JANTAN

Oleh:

FEBRYAN ILHAM SAPUTRA

NIM: 1611013029

(Program Studi Sarjana Farmasi)

Tumbuhan kersen (*Muntingia calabura* L.) merupakan tanaman yang berpotensi dikembangkan sebagai obat yang secara tradisional digunakan sebagai obat analgetik dan antiradang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas imunomodulator ekstrak etanol tumbuhan kersen dengan metode *carbon clearance* serta jumlah total leukosit dan persentase sel leukosit mencit putih jantan. Pengujian dilakukan pada 25 ekor mencit putih jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok 1 (kontrol negatif) diberi suspensi Na CMC 0,5%, kelompok 2, 3, dan 4 diberi suspensi ekstrak daun kersen dengan dosis 50; 100; dan 200 mg/kgbb; dan kelompok 5 (kontrol positif) diberi obat Imboost dengan dosis 15 mg/kgbb. Ekstrak etanol daun kersen diberikan selama enam hari secara oral dan pada hari ke tujuh ditentukan indeks fagositosis, jumlah sel leukosit, persentase jenis sel leukosit, dan persentase bobot limpa relatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa indeks fagositosis kelompok kontrol adalah 1,000, kelompok dosis 50 mg/kgbb adalah 1,095, kelompok dosis 100 mg/kgbb adalah 1,469, kelompok dosis 200 mg/kgbb adalah 1,745, dan kelompok pembandingan imboost 15 mg/kgbb adalah 2,054. Hasil indeks fagositosis menyatakan bahwa ekstrak etanol daun kersen bersifat imunostimulan karena indeks fagositosis besar dari satu ($IF > 1$). Berdasarkan uji ANOVA dua arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap indeks fagositosis dan berdasarkan uji ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap persentase jenis sel leukosit, jumlah total sel leukosit, dan bobot limpa relatif. Hasil tersebut menunjukkan ekstrak daun kersen pada dosis 50, 100, dan 200 mg/kgbb memiliki aktivitas imunostimulan terhadap mencit putih jantan.

Kata Kunci: *Muntingia calabura* L., Imunomodulator, *Carbon Clearance*, leukosit

ABSTRACT

THE IMMUNOMODULATORY EFFECT OF THE KERSEN LEAF (*Muntingia calabura* L.) ETHANOL EXTRACT ON THE CARBON CLEARANCE METHOD OF MALE WHITE MICE

By:

FEBRYAN ILHAM SAPUTRA

Student ID Number: 1611013029

(Bachelor of Pharmacy)

Kersen (*Muntingia calabura* L.) is a plant that has the potential to be developed as a medicine which is traditionally used as an analgesic and anti-inflammatory drug. This study aims to determine the immunomodulatory activity of ethanol extract of kersen leaves using the carbon clearance method and the total leukocytes count and the percentage of leukocytes of male white mice. This study used 25 male white mice were divided into 5 groups. Group 1 (negative control) was given 0.5% Na CMC suspension, groups 2, 3, and 4 were given a dose of 50; 100; and 200 mg/kgbw suspensions of extract of kersen leaves; and group 5 (positive control) were given imboost at a dose of 15 mg/kgbw. The ethanol extract of kersen leaves was given orally for six days and on the seventh day the phagocytosis index, the amount of leukocyte cells, the percentage of leukocyte cell types, and the percentage of spleen relative weight were determined. The results showed that the phagocytosis index of the control group was 1,000, the 50 mg / kgbw dose group was 1.095, the 100 mg / kgbw dose group was 1.469, the 200 mg / kgbw dose group was 1.745, and the 15 mg / kgbw dose group was 2.054. The results of the phagocytosis index indicate that the ethanol extract of kersen leaves is immunostimulating because the phagocytosis index is bigger than one ($IF > 1$). According to two-way ANOVA and continued with Duncan test there is a significant difference ($P < 0,05$) on the phagocytosis index and according to one-way ANOVA and continued with Duncan test there is a significant difference ($P < 0,05$) on the percentage and total number of leukocyte cells and along with spleen relative weight of the mice. These results indicate that extract of kersen leaves at a dose of 50, 100 and 200 mg / kgbw has immunostimulating activity against male white mice.

Keywords : *Muntingia calabura* L., Immunomodulator, Carbon Clearance, leukocyte

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
KATA PENGANTAR	ii
ABSTRAK	iv
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Botani Tumbuhan Kersen (<i>Muntingia calabura</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan.....	5
2.1.2 Nama Lain Tumbuhan	5
2.1.3 Deskripsi Tumbuhan.....	5
2.1.4 Habitat Tumbuhan.....	6
2.1.5 Penggunaan Tradisional Tumbuhan	7
2.1.6 Kandungan Kimia	8
2.1.7 Kegunaan Tumbuhan	9
2.2 Tinjauan Imunologi	10
2.2.1 Sistem Imun	10
2.2.3 Fagositosis.....	16
2.2.4 Antigen dan Imunogen.....	17
2.2.5 Antibodi	19
2.2.6 Imunomodulator.....	22
BAB III METODE PENELITIAN	25
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	25

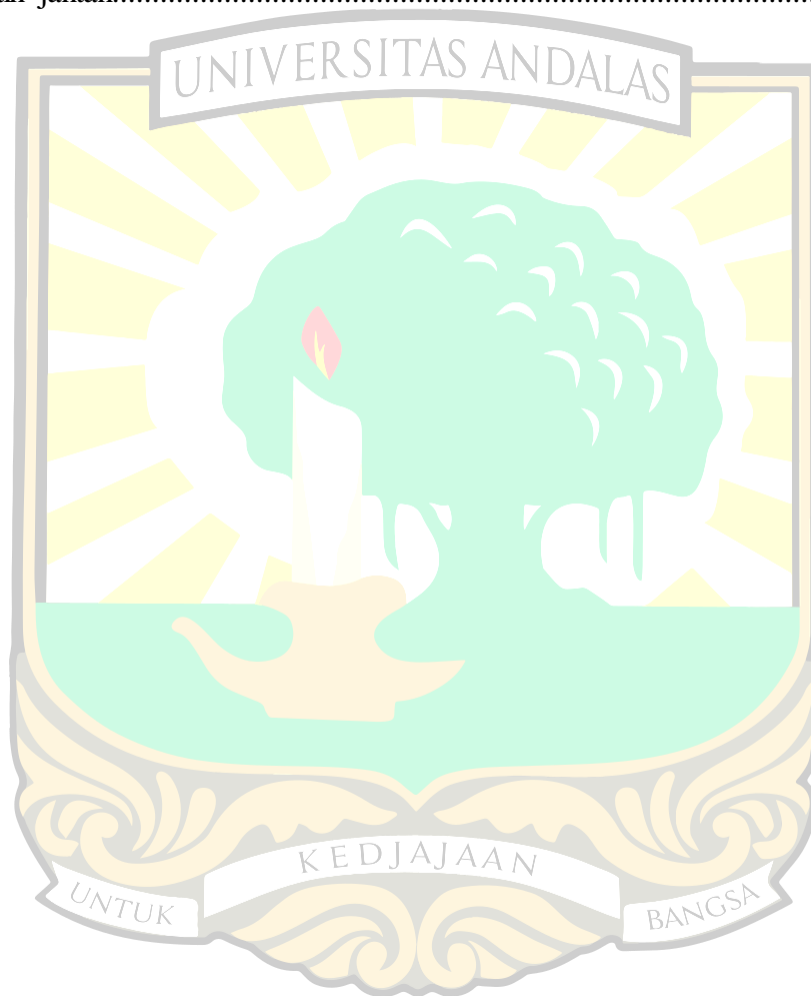
3.2 Alat dan Bahan	25
3.2.1 Alat.....	25
3.2.2 Bahan	25
3.2.3 Hewan Percobaan.....	25
3.3 Metode Penelitian	26
3.3.1 Pengambilan Sampel.....	26
3.3.2 Identifikasi Tanaman.....	26
3.3.3 Penyiapan Simplisia	26
3.3.4 Pembuatan Ekstrak.....	26
3.4 Karakterisasi Ekstrak Etanol Tumbuhan Kersen	27
3.4.1 Penentuan Rendemen	27
3.4.2 Parameter Non Spesifik (28).....	27
3.4.3 Parameter Spesifik	28
3.4.4 Skrining Fitokimia Ekstrak Tumbuhan Kersen (30).....	29
3.4.5 Persiapan Hewan Percobaan	30
3.4.6 Penyiapan Sediaan Uji	30
3.4.7 Uji Aktivitas Imunomodulator	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	52
5.1 Kesimpulan	52
5.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	58
Lampiran 1. Data Penelitian	58
Lampiran 2. Data Hasil Perhitungan Statistik Menggunakan Aplikasi SPSS 24	66
Lampiran 3. Skema Kerja Penelitian	78
Lampiran 4. Foto Hasil Penelitian	82

DAFTAR TABEL

1. Pemeriksaan organoleptis ekstrak etanol daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	58
2. Hasil KLT ekstrak etanol daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	58
3. Hasil penentuan kadar abu total ekstrak etanol daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	58
4. Hasil penentuan susut pengeringan ekstrak etanol daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	59
5. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	59
6. Hasil pengukuran berat badan mencit selama aklimatisasi.....	60
7. Data konsnetrasi dan absorban karbon pada panjang gelombang 605 nm...61	
8. Nilai absorban pada panjang gelombang maksimal pada panjang gelombang 605 nm pada menit ke-3, 6, 9, 12, dan 15.....	62
9. Hasil perhitungan konstanta fagositosis setelah pemberian sediaan daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	63
10. Hasil perhitungan indeks fagositosis pada mencit putih jantan setelah pemberian sediaan daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	63
11. Hasil perhitungan sel leukosit total pada mencit putih jantan setelah pemberian sediaan daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	63
12. Hasil deskriptif persentase jenis sel leukosit darah pada mencit putih jantan setelah pemberian sediaan daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	64
13. Hasil perhitungan bobot limfa relatif pada mencit putih jantan setelah pemberian sediaan daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	65
14. Hasil uji normalitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap indeks fagositosis mencit putih jantan.....	66
15. Hasil uji ANOVA dua arah pengaruh dosis dan waktu ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap indeks fagositosis mencit putih jantan.....	66
16. Hasil uji lanjut Duncan pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap indeks fagositosis mencit putih jantan.....	67
17. Hasil uji lanjut Duncan pengaruh waktu dari ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap indeks fagositosis mencit putih jantan.....	67
18. Hasil uji normalitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase eosinophil mencit putih jantan menggunakan uji Shapiro-Wilk.....	68
19. Hasil uji homogenitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase eosinophil mencit putih jan.....	68
20. Hasil uji ANOVA satu arah pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase eosinofil mencit putih jantan.....	68
21. Hasil uji normalitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase neutrophil batang mencit putih jantan menggunakan uji Shapiro-Wilk.....	69
22. Hasil uji homogenitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase neutrophil batang mencit putih jantan.....	69
23. Hasil uji ANOVA satu arah pengaruh dosis ekstrak daun kersen	

	dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase neutrofil batang mencit putih jantan.....	70
24.	Hasil uji normalitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase neutrophil segmen mencit putih jantan menggunakan uji Shapiro-Wilk.....	70
25.	Hasil uji homogenitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase neutrofil segmen mencit putih jantan.....	71
26.	Hasil uji ANOVA satu arah pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase neutrofil segmen mencit putih jantan.....	71
27.	Hasil uji lanjut Duncan pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase neutrofil segmen mencit putih jantan.....	71
28.	Hasil uji normalitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase limfosit mencit putih jantan menggunakan uji Shapiro-Wilk.....	72
29.	Hasil uji homogenitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase limfosit mencit putih jantan.....	72
30.	Hasil uji ANOVA satu arah pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase limfosit mencit putih jantan.....	72
31.	Hasil uji lanjut Duncan pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase limfosit mencit putih jantan.....	73
32.	Hasil uji normalitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase monosit mencit putih jantan menggunakan uji Shapiro-Wilk.....	73
33.	Hasil uji homogenitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase monosit mencit putih jantan.....	74
34.	Hasil uji ANOVA satu arah pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase monosit mencit putih jantan.....	74
35.	Hasil uji normalitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap jumlah sel leukosit total mencit putih jantan menggunakan uji Shapiro-Wilk.....	74
36.	Hasil uji homogenitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap jumlah total sel leukosit mencit putih jantan.....	75
37.	Hasil uji ANOVA satu arah pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap jumlah total sel leukosit mencit putih jantan.....	75
38.	Hasil uji lanjut Duncan pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap jumlah total sel leukosit mencit putih jantan.....	75
39.	Hasil uji normalitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,	

	100 dan 200 mg/kgbb terhadap bobot limpa relative mencit putih jantan menggunakan uji Shapiro-Wilk.....	76
40.	Hasil uji homogenitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap bobot limpa relative mencit putih jantan.....	76
41.	Hasil uji ANOVA satu arah pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap bobot limpa relatif total mencit putih jantan.....	76
42.	Hasil uji lanjut Duncan pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap bobot limpa relative mencit putih jantan.....	77

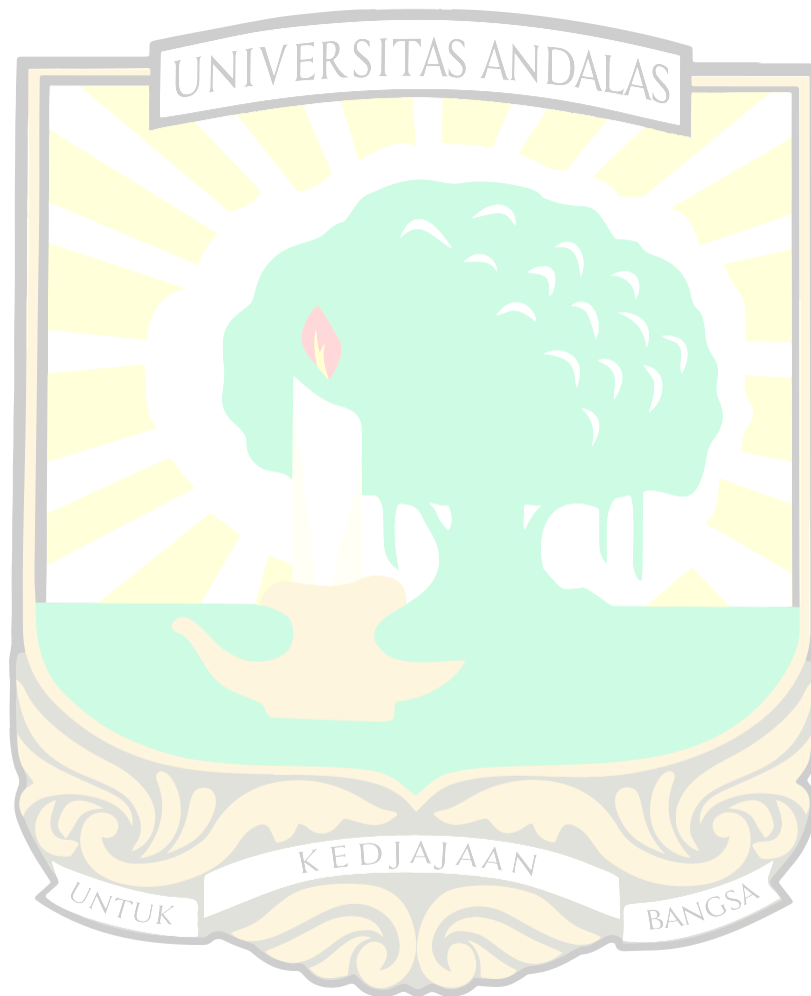


DAFTAR GAMBAR

1.	Hasil KLT ekstrak etanol daun kersen dengan fase gerak heksan : etil astetat (6:4) yang dilihat di bawah sinar UV 254 nm.....	37
2.	Diagram absorban suspensi karbon terhadap waktu pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.) pada dosis 50, 100, dan 200 mg/kgbb.....	41
3.	Diagram indeks fagositosis pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.) pada dosis 50, 100, dan 200 mg/kgbb.....	44
4.	Sel leukosit mencit putih jantan yang diamati dengan hemasitometer pada perbesaran 400x.....	44
5.	Diagram total sel leukosit terhadap dosis setelah pemberian sediaan pada mencit putih jantan daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.) pada dosis 50, 100, dan 200 mg/kgbb.....	45
6.	Sel leukosit mencit putih jantan yang diamati mikroskop dengan perbesaran 40x.....	47
7.	Diagram persentase sel leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.) pada dosis 50, 100, dan 200 mg/kgbb.....	48
8.	Diagram bobot limpa relatif terhadap dosis setelah pemberian sediaan pada mencit putih jantan daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.) pada dosis 50, 100, dan 200 mg/kgbb.....	50
9.	Kurva kalibrasi karbon pada panjang gelombang 605 nm.....	61
10.	Uji penetapan kadar abu total.....	82
11.	Proses pengentalan ekstrak daun kersen menggunakan <i>rotary evaporator</i> (A) dan ekstrak kental daun kersen (B).....	82
12.	Foto mencit setelah diberikan suspensi karbon secara intravena.....	83
13.	Surat identifikasi tumbuhan kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	84

DAFTAR LAMPIRAN

1. Data Penelitian.....	58
2. Data Hasil Perhitungan Statistik Menggunakan Aplikasi SPSS 24.....	66
3. Skema Kerja Penelitian.....	78
4. Foto Hasil Penelitian.....	82



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sistem imun merupakan suatu sistem yang berfungsi sebagai pencegah terjadinya kerusakan pada tubuh atau timbulnya penyakit. Sistem imun yang berfungsi dengan baik dan secara mutlak diperlukan untuk kelangsungan hidup manusia. Bila sistem imun terpapar suatu zat yang dianggap benda asing maka akan terbentuk dua respon imun yang mungkin terjadi pada tubuh, yaitu respon imun non spesifik dan respon imun spesifik (1).

Respon imun non spesifik umumnya merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*) pada tubuh yang berarti bahwa respon terhadap zat asing dapat terjadi walaupun sebelumnya tubuh belum pernah terpapar pada zat tersebut, sedangkan respon imun spesifik merupakan respon yang dapat (*acquired*) timbul terhadap antigen tertentu, dimana tubuh pernah terpapar oleh antigen tersebut sebelumnya (2).

Sistem imun merupakan suatu kumpulan jaringan sel yang kompleks yang saling berkerja sama dalam membedakan komponen-komponen yang berada pada individu tersebut dengan mikroorganismenya dari luar. Sistem kekebalan tersebut dapat menghasilkan dua respon imun yaitu respon imun bawaan dari tubuh dan respon imun adaptif, dimana respon tersebut dihasilkan dalam bentuk melawan benda asing yang masuk (3).

Sistem imun tubuh yang terganggu dapat diperbaiki atau disembuhkan dengan pemberian bahan-bahan yang disebut golongan imunomodulator. Imunomodulator adalah kelompok senyawa tertentu yang dapat mempengaruhi kualitas dan intensitas respon imun. Fungsi imunomodulator tersebut adalah memperbaiki sistem imun dengan cara mengembalikan fungsi sistem imun yang terganggu (imunorestorasi), menstimulasi sistem imun tersebut (imunostimulan) atau dengan menekan/menormalkan reaksi imun yang abnormal (imunosupresan) (4).

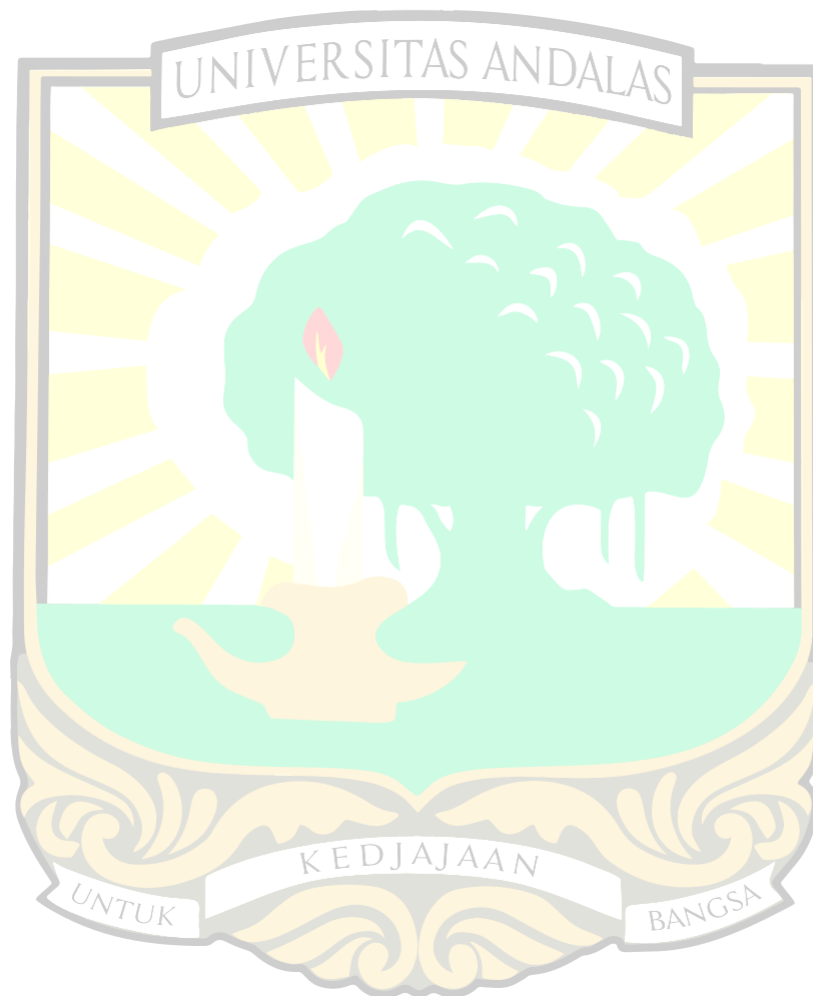
Kersen (*Muntingia calabura*) merupakan tumbuhan dari famili Elaeocarpaceae yang merupakan tumbuhan yang biasa ditemukan di pinggir jalan. Secara lokal kersen (*M. calabura*) disebut pohon ceri Jamaika. Dalam beberapa pengobatan tradisional rakyat Peru, daun, bunga dan kulit tumbuhan ini dipercaya memiliki berbagai kegunaan terapi seperti aktivitas antiseptik, sebagai penurun panas, sakit kepala, tukak lambung, mengurangi pembengkakan kelenjar prostat dan aktivitas antispasmodik. Studi fitokimia yang telah dilakukan mengungkapkan bahwa terdapat berbagai senyawa kimia seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, steroid dan terpenoid di dalam ekstrak etil asetat, metanol dan ekstrak air dari *Muntingia calabura*. Hasil skrining fitokimia menyatakan bahwa senyawa fenolik dan flavonoid merupakan komponen utama dari tumbuhan tersebut (5).

Menurut Bangun (2002), tumbuhan kersen (*M. calabura*) merupakan salah satu tumbuhan yang mengandung senyawa kimia golongan flavonoid yang bersifat mengurangi rasa sakit dan membantu dalam proses terjadinya penyembuhan luka. Arisandi (2008) menyatakan bahwa senyawa kimia golongan flavonoid yang terdapat pada tumbuhan kersen berfungsi sebagai antiinflamasi dan antiseptik. Senyawa kimia tersebut dapat mengatasi rasa sakit apabila terjadi inflamasi/pendarahan dan dapat mengurangi pembekakan yang terjadi pada luka (6).

Salah satu pengujian efek imunomodulator adalah menggunakan uji bersihan karbon (*carbon clearance*). Peningkatan indeks pembersihan karbon menandakan terjadi peningkatan fungsi fagositik makrofag mononuklear dan sistem imunitas tidak spesifik. Fagositosis oleh makrofag penting terhadap benda asing yang memasuki tubuh dan efektivitasnya juga dapat ditingkatkan akibat terjadinya kontak antara parasit dengan antibodi yang menyebabkan terjadinya pembersihan parasit yang lebih cepat di dalam darah (7).

Berdasarkan efek yang dimiliki oleh ekstrak tumbuhan kersen (*M. calabura*). Hal tersebut yang menjadi dasar dilakukan penelitian dalam mengetahui aktivitas imunomodulator ekstrak etanol daun kersen dengan menggunakan metoda carbon clearance terhadap mencit putih jantan, mengetahui

aktivitas imunomodulator ekstrak etanol daun kersen terhadap mencit putih jantan dengan cara perhitungan jumlah sel leukosit total.



1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol daun tumbuhan kersen memiliki aktivitas imunostimulan pada mencit putih jantan ?
2. Apakah ekstrak etanol daun tumbuhan kersen dapat meningkatkan jumlah sel leukosit pada mencit putih jantan ?
3. Apakah ekstrak etanol daun tumbuhan kersen dapat meningkatkan persentase sel leukosit setelah diberikan pada mencit putih jantan ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk menentukan apakah ekstrak etanol daun tumbuhan kersen (*Muntingia calabura*) memiliki efek sebagai imunostimulan pada mencit putih jantan.
2. Untuk menentukan apakah ekstrak etanol daun tumbuhan kersen dapat meningkatkan jumlah sel leukosit pada mencit putih jantan.
3. Untuk menentukan apakah ekstrak etanol daun tumbuhan kersen dapat meningkatkan persentase sel leukosit pada mencit putih jantan.

1.4 Hipotesis Penelitian

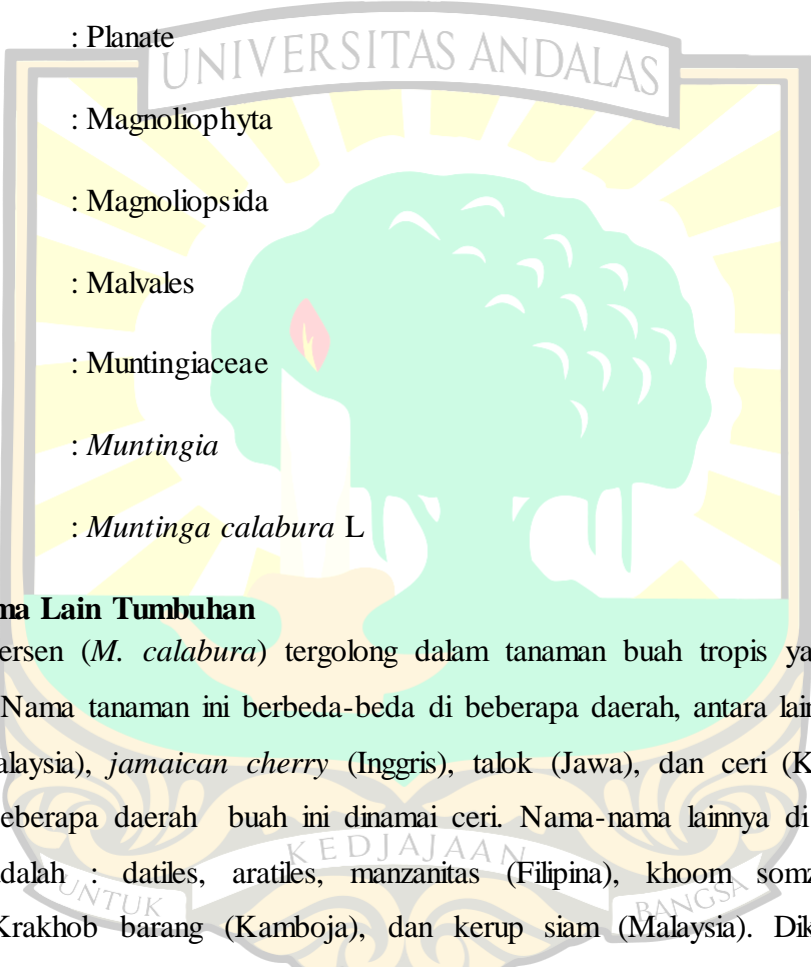
1. Adanya aktivitas sebagai imunostimulan pada mencit putih jantan yang telah diberi ekstrak etanol daun tumbuhan kersen.
2. Adanya peningkatan jumlah sel leukosit pada mencit putih jantan yang telah diberi ekstrak etanol daun tumbuhan kersen.
3. Adanya peningkatan persentase sel leukosit pada mencit putih jantan yang telah diberi ekstrak etanol daun tumbuhan kersen.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani Tumbuhan Kersen (*Muntingia calabura*)

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Kosasih (2013) menyebutkan bahwa klasifikasi dari tumbuhan kersen (*Muntingia calabura*) adalah sebagai berikut :



Kingdom	: Planate
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Malvales
Family	: Muntingiaceae
Genus	: <i>Muntingia</i>
Species	: <i>Muntingia calabura</i> L

2.1.2 Nama Lain Tumbuhan

Kersen (*M. calabura*) tergolong dalam tanaman buah tropis yang mudah dijumpai. Nama tanaman ini berbeda-beda di beberapa daerah, antara lain *kerukup siam* (Malaysia), *jamaican cherry* (Inggris), talok (Jawa), dan ceri (Kalimantan) (8). Di beberapa daerah buah ini dinamai ceri. Nama-nama lainnya di beberapa negara adalah : *datiles*, *aratiles*, *manzanitas* (Filipina), *khoom somz*, *takhob* (Laos), *Krakhob barang* (Kamboja), dan *kerup siam* (Malaysia). Dikenal juga sebagai *Capulin blanco*, *Cacaniqua*, *Nigua*, *Iguito* (bahasa Spanyol), *Jamaican cherry*, *Panama berry*, *Singapore cherry* (Inggris) dan *Japanese kers* (Belanda), yang kemudian dalam bahasa Indonesia menjadi kersen (9).

2.1.3 Deskripsi Tumbuhan

Kersen (*M. calabura*) merupakan satu-satunya spesies dalam genus *Muntingia*, merupakan tanaman berbunga asli Meksiko Selatan, Karibia, Amerika Tengah, dan Amerika Selatan bagian barat selatan hingga Peru dan Bolivia.

Memiliki tinggi 25 hingga 40 kaki, dengan penyebaran cabang ranting hampir horizontal. Kersen memiliki daun berbentuk bergerigi dengan panjang 2,5-15 cm dan lebar 1–6,5 cm. Daunnya berwarna hijau, tersusun secara berganti-ganti, berbentuk lanset, memiliki bentuk yang meruncing di ujungnya, miring di pangkal. Bunganya kecil, berwarna putih, dan sedikit berbau khas. Bunga-bunganya terbentuk dari 5 sepal hijau dan 5 kelopak putih dan memiliki banyak benang sari kuning yang menonjol. Bunga kersen memiliki bentuk menyerupai buah stroberi ketika mekar (10).

Haki (2009) menjelaskan bahwa tumbuhan kersen termasuk ke dalam tumbuhan tahunan dengan tinggi mencapai 12 m. Batang tumbuhan ini berkayu, tegak, bulat dan memiliki percabangan simpodial. Percabangannya mendatar, menggantung ke arah ujung, berbulu halus, daun tunggal berbentuk bulat telur sampai lanset. Lembaran daunnya memiliki pangkal yang nyata dan tidak simetris dengan ukuran mencapai 14 cm x 4 cm, tepi daun bergerigi, bagian bawah berbulu, daun-daunnya terletak mendatar dan berseling (9).

Tjitroseopomo (2016) di dalam buku Morfologi Tumbuhan menjelaskan juga tumbuhan kersen memiliki daun berwarna hijau muda dengan bulu rapat di permukaan bawah daun. Batangnya dapat tumbuh hingga mencapai tinggi 12 m, namun pada umumnya berkisar antara 1-4 m, percabangannya mendatar dan biasanya membentuk perkumpulan cabang yang rindang. Sedangkan bunganya berwarna putih dan terletak di sisi sebelah kanan atas daun, memiliki tangkai yang panjang, mahkota memiliki tepi rata, bentuk telur bundar, memiliki jumlah benang sari yang banyak antara 10-100 belai. Buah kersen berbentuk bulat, rasanya manis, berwarna hijau pada waktu muda dan merah setelah matang dengan biji yang banyak seperti pasir. Bijinya berukuran 0,5 mm dan berwarna kuning (9).

2.1.4 Habitat Tumbuhan

Kersen (*M. calabura*), merupakan tumbuhan belukar yang diperkenalkan di Asia Tenggara dan berasal dari Amerika Tropis. Tumbuhan ini juga dikenal secara lokal sebagai Jamaika ceri yang merupakan family dari Elaeocarpaceae. Tumbuhan ini sering terlihat tumbuh sebagai pohon pinggir jalan, selain itu juga

digunakan sebagai tumbuhan yang dapat menjadi indikator toleransi polusi udara (Singh, 2017). Tumbuhan ini bukan jenis tumbuhan asli Indonesia, namun tumbuhan tersebut mampu tumbuh dan berkembang dengan baik khususnya di daerah Jawa Barat, Banten dan DKI Jakarta. Jenis tumbuhan ini merupakan tanaman pionir, tumbuh baik di daerah dataran rendah dan kering, namun dapat juga tumbuh hingga ketinggian 1.000 mdpl. pH tanah yang bagus untuk ditanami adalah berkisar 5,5 - 6,5 dan tidak toleran terhadap kandungan air asin (11).

2.1.5 Penggunaan Tradisional Tumbuhan

Kersen (*M. calabura*) sering juga disebut dengan tanaman talok merupakan salah satu tanaman yang sering dijumpai diperkebunan bahkan pada perkarangan rumah. Tanaman ini sering digunakan sebagai bahan dalam pengobatan tradisional, diantaranya untuk obat penyakit asam urat, diabetes, serta sebagai anti bakteri (12). Kersen adalah salah satu tumbuhan yang diduga mengandung bahan aktif yang dapat berkhasiat sebagai penurun gula dalam darah. Hal tersebut diperkuat dengan adanya penelitian yang menyatakan bahwa adanya metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun kersen berupa flavonoid, saponin dan tanin (13).

Daun, batang dan akar tumbuhan kersen telah dipercaya memiliki khasiat dalam penggunaannya sebagai obat tradisional dalam berbagai jenis metode aplikasi pengobatan. Di Peru, daun dan kulitnya digunakan sebagai antiseptik, dan untuk mengobati apabila terjadi pembengkakan di anggota gerak bawah. Rebusan daun kersen juga menjadi perawatan populer di Amerika Timur untuk mengurangi terjadinya tukak lambung. Di Filipina, bunga kersen digunakan untuk mengobati sakit kepala dan untuk meredakan pilek. Di Malaysia dan Vietnam, akar kersen sering digunakan sebagai obat tradisional, meskipun di negara-negara ini kersen masih dianggap sebagai tumbuhan yang terabaikan. Berhubungan dengan penggunaan tradisional kersen tersebut, para peneliti telah mengidentifikasi beberapa sifat bioaktif tumbuhan tersebut. Beberapa diantaranya adalah sebagai anti inflamasi, dan daunnya memiliki aktivitas antioksidan, akarnya memiliki sifat

sitotoksitas terhadap sel leukemia dan memiliki aktivitas antimikroba yang terdapat pada daun tumbuhan kersen tersebut (14).

2.1.6 Kandungan Kimia

Kersen memiliki berbagai kandungan kimia pada daun, bunga, batang serta buahnya. Ekstrak yang terdapat dari bunga menunjukkan terdapat senyawa alkaloid, terpenoid, dan steroid yang maksimum tetapi tidak ditemukan adanya tanin. Ekstrak daun dan batang masing-masing menunjukkan terdapat jumlah terpenoid dan phlobatannin yang tinggi. Selain itu, ekstrak yang dibuat dari buah menunjukkan terdapat jumlah besar gula, tanin dan terpenoid (15).

Pada penelitian yang dilakukan menggunakan destilasi uap dari hasil ekstraksi buah kersen, kemudian diikuti dengan analisis GC / MS menghasilkan identifikasi 56 senyawa yang terdiri dari ester (31,4%), senyawa fenolik (11,3%), sesquiterpenoid (10,6%), alkohol (15,9%), dan turunan furan (8,3%). Daun kersen mengandung berbagai senyawa kimia, diantaranya adalah *5-hydroxy-3,7,8-trimethoxyflavone*, *3,7-dimethoxy-5-hydroxyflavone*, *2,4-dihydroxy-3-methoxy chalcone*, dan *calaburone*. Ekstrak kersen juga menunjukkan adanya kandungan phytol (26,26%), kolesterol (4,47%), asam n-heksadekanat (11,97%), asam siklopropanoat (10,26%), sitosterol (11,15%) dan stigmasterol (7,20%), sebagai kandungan konstituen utamanya (16).

Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa fenol alam yang terbesar dalam tanaman. dan tersusun oleh 15 atom karbon sebagai inti dasarnya. Tersusun dari konfigurasi C₆-C₃-C₆ yaitu 2 cincin aromatik dan dihubungkan oleh tiga atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Adapun jenis flavonoid terbagi atas :

1. Aglikon Flavonoid, dibagi dalam beberapa golongan dengan struktur dasar seperti flavon, flavonol, isoflavon, katekin, flavanon, leukoantosianin, auron, kalkon dan dihidroflavonol.
2. Flavonoid glikosida, merupakan flavonoid dimana aglikonnya berikatan dengan satu atau lebih gugus gula. Flavonoid glikosida dikelompokkan menjadi 2 yaitu flavonoid-Oglikosida dan flavonoid-C-glikosida.

3. Flavonoid O-glikosida, merupakan flavonoid biasanya terdapat sebagai flavonoid O-glikosida, pada senyawa tersebut satu gugus hidroksil flavonoid (lebih) terikat pada satu gula (lebih) dengan ikatan hemiasetal yang tak tahan asam
4. Flavonoid C-glikosida, dimana gula juga dapat terikat langsung pada atom karbon dari flavonoid dan dalam hal ini gula terikat pada inti benzena dengan suatu ikatan karbon-karbon yang tahan asam (bila dibandingkan dengan O-glikosida), glikosida ini disebut C-glikosida, ikatan terjadi pada C-6 dan C-8 dalam inti flavonoid.
5. Flavonoid Sulfat, golongan flavonoid ini mudah larut dalam air dan mengandung satu ion sulfat atau lebih, yang terikat pada hidroksil fenol atau gula.
6. Biflavonoid, flavonoid dimer dimana yang biasa terlibat di sini adalah flavon dan flavanon yang secara biosintesis mempunyai pola oksigenasi yang sederhana 5,7,4' (kadang-kadang 5,7,3',4') dan ikatan dan ikatan antar flavonoidnya berupa ikatan karbon-karbon atau kadang-kadang ikatan eter.
7. Aglikon Flavonoid yang optik aktif, merupakan sejumlah Aglikon mempunyai atom karbon asimetrik sehingga menunjukkan keaktifan optik (memutar cahaya terpolarisasi datar). Yang termasuk flavonoid optik aktif adalah flavanon, dihidroflavanol, katekin, rotenoid dan beberapa biflavonoid.

2.1.7 Kegunaan Tumbuhan

Kersen banyak digunakan sebagai obat-obatan tradisional seperti sebagai aktivitas antioksidan, peningkatan fungsi endotel, fungsi vaskular, dan menaikkan sensitivitas insulin, serta dalam melemahkan reaktivitas trombosit dan penurunan tekanan darah. Terlebih lagi, penelitian ilmiah yang tepat terhadap potensi bioaktif yang dimiliki oleh tanaman ini yang diikuti juga dengan investigasi kimia membuat obat-obatan herbal kersen ini lebih layak (10).

Salah satu olahan herbal bunga kersen adalah olahan daun menjadi kripik, bunga menjadi teh dan buah dapat menjadi selai. Selain itu buah kersen dapat diolah juga menjadi bermacam-macam olahan antara lain seperti sirup. Sedangkan bunga kersen dapat dijadikan sebagai teh herbal dan olahan daun kersen dapat

dijadikan kripik daun, pepes serta menjadi bahan sayur (17). Pemanfaatan daun kersen menjadi olahan pangan juga sudah banyak dilakukan, seperti diolah menjadi permen jelly, sebagai minuman dan teh seduh, juga sebagai kripik selai, daun kersen juga diolah menjadi cairan sanitasi tangan (8). Di negara Meksiko, buah kersen juga sangat digemari dan banyak dijual di pasar-pasar tradisional, olahan jus buah kersen sangat bermanfaat dan memiliki kandungan isotonik yang lebih baik dibandingkan dengan larutan isotonik yang beredar di pasaran (9).

2.2 Tinjauan Imunologi

2.2.1 Sistem Imun

Sistem imun merupakan suatu kumpulan jaringan sel yang kompleks yang saling berkerja sama dalam membedakan komponen-komponen yang berada pada individu tersebut dengan mikroorganisme dari luar. Sistem kekebalan tersebut dapat menghasilkan dua respon imun yaitu respon imun bawaan dari tubuh dan respon imun adaptif, dimana respon tersebut dihasilkan dalam bentuk melawan benda asing yang masuk (3).

Sistem imun merupakan mekanisme yang digunakan oleh tubuh dalam mempertahankan tubuh sebagai pelindung terhadap ancaman bahaya yang dapat ditimbulkan oleh berbagai subjek yang terdapat dalam lingkungan. Imunitas atau kekebalan merupakan pertahanan tubuh terhadap senyawa makromolekul maupun mikroorganisme asing yang masuk ke dalam tubuh. Benda asing yang masuk tersebut dapat berupa debu, bakteri, protozoa, serangga, virus, ataupun parasit lainnya. Reaksi yang timbul disebabkan oleh koordinasi sel-sel, molekul-molekul dan bahan lainnya terhadap benda asing atau antigen yang masuk ke dalam tubuh disebut respon imun. Respon imun merangkep seluruh mekanisme fisiologis tubuh dalam mengenal benda-benda asing, kemudian disisihkan dan dimetabolisme dengan atau tanpa kerusakan pada jaringannya sendiri. Tidak semua mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh dapat menyebabkan infeksi, karena sistem kekebalan tubuh mampu mengeliminasi terlebih dahulu mikroorganisme yang masuk tersebut sebelum berkembang menjadi penyakit (1).

Bila sistem imun terpapar oleh zat yang dianggap sebagai benda asing, maka ada dua jenis respon imun yang mungkin akan diberikan, yaitu respon imun nonspesifik (bawaan), dan respon imun spesifik (didapat). Respon imun nonspesifik umumnya merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*) yang berarti bahwa respon yang diberikan terhadap zat asing dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar pada zat asing tersebut, sedangkan respon imun spesifik merupakan respon tubuh yang didapat (*acquired*) dan timbul terhadap antigen tertentu dimana tubuh pernah terpapar sebelumnya dengan benda asing tersebut (2).

a. Sistem Imun Non Spesifik

Sistem imun non spesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme. Respon imun non spesifik dikatakan juga sistem imun bawaan dan diaktifkan setiap kali benda asing masuk (18). Komponen-komponen utama dari sistem imun bawaan (non-spesifik) yang telah lama diterima secara luas adalah dengan melakukan pertahanan fisik dan kimiawi seperti epitel dan substansi antimikroba yang diproduksi pada permukaan epitel, dihasilkan berbagai jenis protein dalam darah termasuk diantaranya komponen-komponen sistem komplemen, dihasilkan sel-sel fagosit yaitu sel-sel polimorfonuklear dan makrofag serta sel natural killer (NK) dan dibentuk mediator inflamasi lainnya dan berbagai sitokin (2).

Disebut non spesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroba tertentu, melainkan terhadap mikroba yang telah ada dan berfungsi sejak lahir. Mekanisme yang dihasilkan tidak menunjukkan spesifisitas terhadap benda asing dan tidak mampu melindungi tubuh terhadap banyak patogen potensial baru. Sistem tersebut merupakan pertahanan pertama dalam menghadapi serangan berbagai mikroba dan dapat memberikan respon secara langsung. Sistem imun bawaan (non spesifik) dapat meliputi kulit dan mukosa sebagai pelindung, secara kimia & fisik, asam lemak (kulit, rambut, folikel), lisozim (saliva, air mata), asam lambung gerak silia yang terjadi serta proses terjadinya batuk atau bersin (19).

Salah satu upaya tubuh dalam mempertahankan diri terhadap masuknya benda asing (antigen) seperti antigen bakteri adalah menghancurkan bakteri tersebut secara nonspesifik dengan proses fagositosis, tanpa memedulikan perbedaan-perbedaan kecil yang terdapat diantara substansi-substansi asing itu. Dalam proses ini leukosit yang termasuk fagosit memegang peran yang sangat penting, khususnya makrofag dan juga neutrofil serta monosit (2). Menurut Patrick (2005), terdapat beberapa pertahanan tubuh yang dapat dilakukan berdasarkan dengan proses sistem imun non spesifik tersebut, yaitu :

1. Pelindung Fisik, dimana kulit dan mukosa dapat menghambat masuknya mikroorganisme. Kulit yang utuh menjadi salah satu garis pertahanan pertama karena memiliki sifat yang permeabel terhadap infeksi berbagai bentuk organisme.
2. Kompetisi dengan flora komensal, dimana kolonisasi dengan flora bakteri normal pada bagian tubuh tertentu dapat mencegah kolonisasi mikroorganisme patogen yang masuk kedalam tubuh.
3. Pelindung biologis, misalnya sekresi lisozim oral dalam tubuh.
4. Pelindung kimiawi, seperti pH asam dalam lambung, asam laktat dan sekresi sebasea dalam mempertahankan pH kulit dan menjadikannya tetap rendah sehingga sebagian besar mikroorganisme tidak mampu bertahan hidup dalam kondisi tersebut.
5. Mekanisme fisik yang mengeluarkan bakteri, misalnya aliran urin melalui saluran kemih, adanya reflex batuk, dan kerja mikrosilia mikroorganisme yang masuk melalui saluran nafas kemudian diangkut keluar oleh gerakan silia yang melekat pada sel epitel dan menurunkan resiko terjadinya multiplikasi bakteri (18).

b. Sistem Imun Spesifik

Sistem imun spesifik (*acquired adaptive immunity*) merupakan kekebalan buatan dimana sebagian besar efek dapat muncul karena ada aktivitas pemicu sebelumnya. Imunitas spesifik akan membentuk antibodi dan limfosit. Antibodi dan limfosit akan diaktivasi apabila ada benda asing atau toksin yang masuk ke

dalam tubuh. Aktivasi tersebut dilakukan sebagai upaya menyerang benda asing tersebut maupun menetralkan toksin tertentu untuk mencapai kesembuhan (20).

Sistem imun adaptif bersifat spesifik terhadap suatu antigen (*antigen-dependent*), dan memiliki memori sehingga tubuh dapat bereaksi dengan lebih cepat serta lebih efisien pada saat terpapar dengan antigen yang sama pada paparan berikutnya. Salah satu yang termasuk sistem imun spesifik adalah Sel limfosit B . Selain memiliki kemampuan dalam mengenali antigen secara spesifik, sel limfosit B juga dapat mengsekresi antibodi atau immunoglobulin (21).

Terdapat empat ciri-ciri respon imun spesifik yang membedakannya dengan respon imun non-spesifik, yaitu:

- a) Spesifisitas, respon imun dapat bereaksi seluruhnya dengan antigen yang identik atau dengan antigen yang sama seperti antigen terdahulu yang memicu terjadinya respon imun.
- b) Heterogenitas, berbagai jenis sel dipengaruhi untuk berinteraksi dengan respon yang berbeda-beda, sehingga akan dihasilkan produk populasi sel yang berbeda pula sesuai dengan antigen yang berbeda.
- c) Memiliki daya ingat atau memori, dengan cara melakukan proliferasi dan diferensiasi sel-sel imun yang telah disensitisasi bila terjadi pemaparan berikutnya terhadap antigen yang sama, dimana efeknya akan mempercepat dan memperbesar respon imun spesifik.
- d) Penganalan self-nonself antigen, sistem imun spesifik hanya bereaksi terhadap antigen yang berasal dari luar tubuh dan tidak akan berpengaruh dan memberikan respon terhadap antigen yang berasal dari dalam tubuh sendiri (1).

Respons imun spesifik memiliki beberapa mekanisme dalam memberikan efek, dapat dibedakan menjadi :

1. Respon Imun selular

Telah diketahui bahwa mikroorganisme hidup dan berkembang biak secara intra seluler, termasuk didalam makrofag sehingga sulit untuk dijangkau oleh

antibody. respons imun seluler diperlukan untuk melawan mikroorganisme intraseluler tersebut, dan diperankan oleh limfosit T. Dimana yang berperan adalah sub populasi sel T yang disebut dengan sel T penolong (T-helper), sel tersebut akan mengenali mikroorganisme atau antigen bersangkutan melalui major histocompatibility complex (MHC) kelas II yang terdapat pada permukaan sel makrofag. Sinyal yang diberikan akan menstimulasi limfosit untuk memproduksi berbagai jenis limfokin, termasuk interferon yang dapat membantu makrofag untuk menghancurkan mikroorganisme tersebut. Sub populasi limfosit T lain yang disebut dengan sel T sitotoksik (*Cytotoxic*), berfungsi dalam menghancurkan mikroorganisme intraseluler yang dilakukan melalui MHC kelas I secara langsung (*cell to cell*). Sel T-sitotoksik juga dapat menghasilkan gamma interferon untuk mencegah penyebaran mikroorganisme ke dalam sel lainnya.

2. Respon imun Humoral

Respon ini dimulai dengan terjadinya diferensiasi limfosit B menjadi satu populasi (klon) sel plasma dan kemudian melepaskan antibodi spesifik ke dalam darah. Pada respon ini berlaku juga respons imun primer dalam membentuk klon sel B memori. Setiap klon limfosit diperintahkan untuk membentuk satu jenis antibodi yang spesifik terhadap antigen tertentu (*Clonal selection*). Antibodi tersebut akan berikatan dengan antigen dan membentuk kompleks antigen-antibodi untuk menghancurkan antigen yang masuk. Limfosit T helper diperlukan untuk membantu sel limfosit B berdiferensiasi dan membentuk antibodi. Terdapat juga sel T penekan (*T suppressor*) untuk mengatur produksi sehingga produksi antibodi seimbang dan sesuai dengan kebutuhan.

3. Interaksi Antara Respon Imun Seluler dengan Humoral

Disebut juga *antibody dependent cell mediated cytotoxicity* (ADCC), sitolisis baru terjadi apabila dibantu oleh antibodi. Dalam proses ini antibodi berfungsi untuk melapisi antigen sasaran, akibatnya sel *natural killer* (NK) dapat melekat erat pada sel atau antigen sasaran yang dituju. Perlekatan yang terjadi antara sel NK pada kompleks antigen antibodi akan mengakibatkan sel NK menghancurkan sel sasaran tersebut (22).

2.2.2 Fungsi Sistem Imun

Dalam pandangan modern, sistem imun memiliki tiga fungsi utama yaitu: pertahanan, homeostasis dan pengawasan.

1. Pertahanan

Fungsi pertahanan meliputi pertahanan terhadap antigen dari luar tubuh seperti terjadi invasi mikroorganisme atau parasit kedalam tubuh. Ada dua kemungkinan yang terjadi setelah dilakukan pertahanan dan perlawanan antara dua antibodi dengan antigen yang berhadapan tersebut, yaitu tubuh dapat bebas dari efek merugikan yang akan timbul atau sebaliknya, tubuh akan menderita sakit apabila pihak penyerang atau antigen yang lebih kuat.

2. Homeostasis

Fungsi homeostasis, merupakan persyaratan umum dari semua organisme multiseluler yang menginginkan selalu terjadinya bentuk uniform dari setiap jenis sel tubuh dalam memperoleh keseimbangan. Proses degradasi dan katabolisme terjadi dalam usaha memperoleh keseimbangan tersebut, bersifat normal agar benda-benda selular yang telah rusak dapat dibersihkan atau dikeluarkan dari tubuh. Contohnya adalah dalam proses pembersihan eritrosit dan leukosit yang telah mati.

3. Pengawasan

Fungsi pengawasan meliputi pengawasan diseluruh bagian tubuh terutama ditujukan dalam mengawasi pengenalan terhadap sel-sel yang mulai berubah menjadi abnormal akibat adanya proses mutasi. Perubahan sel tersebut dapat terjadi spontan atau dapat diinduksi oleh benda asing seperti zat-zat kimia tertentu, radiasi atau infeksi virus. Fungsi pengawasan (surveillance) dari sistem imun bertugas untuk selalu waspada dan mengenal adanya perubahan-perubahan dan selanjutnya secara cepat menghancurkan konfigurasi yang baru timbul pada permukaan sel yang abnormal (22).

2.2.3 Fagositosis

Fagositosis adalah proses yang biasa digunakan oleh sel-sel imun. Selama proses fagositosis dalam sel imun, reseptor di membran sel pertama-tama akan mengenali antibodi pada suatu target. Hal ini menyebabkan terjadi tonjolan membran mengelilingi target sebelum terjadi proses penyerapan, pengasaman, dan degradasi target. Dalam sistem kekebalan tubuh, fagositosis dilakukan sebagai suatu mekanisme pertahanan tubuh oleh fagosit khusus, fagosit khusus tersebut adalah makrofag dan neutrofil (23).

Fagositosis merupakan suatu proses biologis yang sudah ada dari dahulu kala, pada awalnya digunakan untuk penyerapan nutrisi dan sekarang merupakan aktivitas penting dalam sistem kekebalan tubuh. Sel Fagosit, termasuk neutrofil, sel dendritik, dan makrofag, secara teratur membersihkan tubuh dari patogen, sel apoptosis, dan sampah seluler lainnya. Target fagositik akan dikenali oleh reseptor awal oleh sel tertentu yang menyampaikan sinyal awal yang berbeda melalui protein, lipid kinase, fosfatase, GTPase, dan protein pensinyalan lainnya. Target yang dilapisi oleh plasma atau komponen turunan sel (opsonin) dikenali oleh reseptor opsonik, termasuk reseptor Fc (FcR) yang dapat mengikat domain imunoglobulin dan *complement receptors* (CR) (24).

Mekanisme proses fagositosis adalah sebagai berikut :

1. Penarikan bakteri (kemotaksis), yaitu suatu rangsangan kimia yang mendorong sel fagosit untuk bergerak ke arah mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh. Fagosit mononuklear memiliki kemampuan untuk bergerak dalam jaringan menuju suatu rangsangan kimiawi yang terbentuk. Kemampuan makrofag dalam menghasilkan enzim proteolitik dapat mempermudah proses kemotaksis yang terjadi.
2. Penempelan (*attachment*), yaitu sel fagosit dengan mikroorganisme atau bahan asing lainnya. Penempelan biasanya berkerja dengan mudah sehingga mikroorganisme ini dapat langsung difagosit oleh sel fagosit. Proses ini dapat berlangsung lebih mudah apabila mikroorganisme terlebih dahulu diselubungi oleh protein serum tertentu yang disebut opsonisasi. Protein yang dapat bertindak sebagai opsonin diantaranya adalah komponen protein dari sistem

komplemen dan molekul antibodi. Setelah itu sel fagosit akan memanjang membentuk pseudopodia sehingga mikroorganisme terkurung.

3. Ingesti, yaitu proses terbentuknya vesikel intraseluler (fagosom) yang mengandung bakteri atau bahan lain.
4. Pembentukan kompleks antara fagosom dan lisosom (fagolisosom), dimana memungkinkan lisosom untuk melepaskan enzim pencernaan ke dalam sitoplasma sehingga terjadi degradasi molekul bakteri.
5. Digesti, yaitu pemusnahan mikroorganisme yang terdapat di dalam fagolisosom. Mekanisme penghancuran terbagi menjadi dua macam, yaitu tergantung dengan oksigen (peroksidase) dan tidak tergantung dengan oksigen (protease, lipase, dan glikosidase).
6. Setelah enzim-enzim bekerja membunuh mikroorganisme dalam fagolisosom, maka akan terbentuk residu, yaitu zat-zat yang tidak dapat diuraikan kembali oleh enzim. Residu ini selanjutnya akan dikeluarkan dari dalam sel fagositik (1).

2.2.4 Antigen dan Imunogen

Antigen adalah setiap zat yang mampu menginduksi pembentukan antibodi dalam kondisi yang sesuai, dan dapat bereaksi secara khusus dengan antibodi yang diproduksi. Antigen dan antibodi bereaksi dengan melibatkan reseptor pengenalan sel-T dengan antibodi. Molekul antigen ini memiliki beberapa pengenalan antigenik yang disebut epitop, dan masing-masing epitop dapat berikatan dengan antibodi spesifik. Dengan demikian, antigen tunggal dapat mengikat banyak antibodi yang berbeda dengan metode pengikatan yang berbeda-beda (25).

Kebanyakan antigen adalah antigen yang tergantung pada timus atau antigen independen dari timus. Antigen yang tergantung pada timus membutuhkan adanya peran dari sel T dimana sebagian besar protein dan sel darah merah yang bukan berasal dari tubuh sendiri adalah contoh dari molekul-molekul ini. Antigen independen timus tidak memerlukan peran dari sel T untuk memproduksi antibodi. Sebaliknya, dapat secara langsung merangsang limfosit B spesifik dengan menghubungkan reseptor antigen pada permukaan sel B.

Molekul-molekul ini terutama menghasilkan antibodi IgM dan IgG2 tetapi tidak dapat menstimulasi membentuk sel-sel memori yang tahan lama (25).

Menurut Kresno (1991) antigen adalah suatu substansi atau suatu zat asing yang berpotensi dan mampu merangsang timbulnya respons imun yang dapat dideteksi, respon tersebut dapat berupa respons imun seluler, respons imun humoral atau respons interaksi antara respons imun seluler dengan humoral. Karena sifat tersebut, maka antigen dapat disebut juga imunogen. Imunogen yang paling poten umumnya merupakan golongan makromolekuler protein, polisakarida atau polimer sintetik yang lain seperti poli vinil pirolidon (PVP). Imunogenisitas atau kemampuan dari imunogen dalam merangsang terbentuknya antibodi bergantung dari antigennya sendiri, bagaimana cara masuknya, individu yang menerima antigen tersebut, dan kepekaan metode yang dilakukan dalam upaya mendeteksi adanya respons imun (22).

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi imunogenisitas dari suatu molekul dan memiliki peran dalam menimbulkan sifatnya imunogenisitas tersebut, yaitu :

1. Keasingan

Sistem imun yang normal dapat membedakan antara dirinya (self) dan benda asing (non self), maka untuk menjadi imunogenik substansi tersebut harus bersifat asing. Seperti albumin yang dimurnikan dari serum binatang tidak akan menimbulkan respons imun terhadap dirinya, tetapi akan menimbulkan efek yang nyata apabila albumin tersebut disuntikkan kepada binatang lain.

2. Ukuran Molekul

Molekul substansi harus memiliki ukuran cukup besar. Substansi yang memiliki berat molekul besar dari 100.000 (umumnya makromolekul) merupakan imunogen yang sangat poten. Sedangkan substansi yang mempunyai berat molekul kecil dari 10.000 memiliki sifat imunogenik yang lemah bahkan bisa tidak imunogenik sama sekali.

3. Kerumitan struktur kimia

Susunan molekul harus kompleks, dimana semakin kompleks susunan molekulnya maka semakin besar imunogenitas substansi tersebut. Tetapi untuk menentukan batas yang jelas dalam menentukan struktur molekul yang dapat memberikan efek imunogenik tidaklah mudah.

4. Konstitusi genetik

Kemampuan dalam menghasilkan respons imun terhadap antigen bergantung terhadap susunan genetik dari suatu individu.

5. Metode pemasukan antigen

Cara masuk antigen kedalam tubuh dapat menentukan respons imun yang akan terjadi. Seperti sejumlah antigen yang dimasukkan secara intravena tidak akan menghasilkan respons imun yang sama apabila dibandingkan dengan antigen sama yang dimasukkan secara subkutan. Antigen masuk kedalam tubuh dapat langsung melalui kulit, melalui saluran pencernaan, melalui pernapasan, atau disuntikkan melalui intraperitoneal, subkutan, intravenosa dan intramuskuler.

6. Dosis

Besarnya dosis dapat menentukan respon imun yang terjadi. Apabila dosis minimum suatu antigen telah dilewati, maka semakin tinggi dosisnya akan mengakibatkan respons imunnya juga akan meningkat. Akan tetapi pada dosis tertentu dapat juga terjadi respon sebaliknya yaitu menurunnya respon imun atau juga respon imun dapat menghilang diakibatkan oleh keadaan toleransi imunogenik (22).

2.2.5 Antibodi

Antibodi (imunoglobulin) merupakan suatu molekul yang disintesis oleh sel B/sel plasma (bentuk larut dari reseptor antigen pada sel B). Membran imunoglobulin adalah reseptor antigen pada permukaan sel B. Secara fungsional antibodi adalah molekul yang dapat memberikan efek dengan antigen. Sedangkan bagian antibodi yang bereaksi dengan antigen disebut dengan paratop (19).

Antibodi memiliki struktur dasar yang sama, terdiri atas fragmen Fab yang berfungsi mengikat antigen dan Fc yang berinteraksi dengan unsur-unsur lain dari sistem imun yang mempunyai reseptor Fc. Memiliki bentuk menyerupai huruf Y, tersusun atas 2 rantai berat (*heavy chain*) dan 2 rantai ringan (*light chain*) yang dihubungkan dengan jembatan disulfida (S-S). Rantai berat mempunyai berat molekul 50.000 dalton sedangkan rantai ringan mempunyai berat molekul 25.000 dalton (19).

Antibodi dapat dibedakan menjadi 5 jenis yaitu Ig M, Ig G, Ig A, Ig D dan Ig E.

1. IgM

IgM merupakan antibodi yang pertama terbentuk setelah terjadi interaksi dengan antigen, terbentuk 4 hingga 5 hari setelah terpapar, memiliki jumlah banyak dan akan berkurang atau lenyap dalam jangka waktu 10 hingga 11 hari setelah terpapar.

2. IgG

IgG adalah antibodi utama dalam sistem kekebalan humoral, akan timbul setelah IgM, memiliki ukuran lebih kecil daripada IgM, diproduksi dengan jumlah lebih banyak daripada IgM, dibentuk 5 hari setelah terpapar, mencapai puncak dalam 2-3 minggu setelah terpapar dan kemudian turun secara perlahan, serum dapat diambil 2-3 minggu setelah vaksinasi / setelah proses penyembuhan karena infeksi alam, guna mengetahui titer antibodi.

3. IgA

IgA timbul bersamaan dengan IgG, memiliki 2 bentuk, dimana yang bebentuk dalam serum memiliki 1 tempat pengikat antigen dan bentuk sekretori terdapat di mata, saluran pernapasan, saluran pencernaan, memiliki 2-3 tempat pengikat antigen, dihasilkan oleh sel mukosa, hanya sedikit memberi perlindungan terhadap antigen yang masuk secara intra muskuler atau intravena tetapi memberikan perlindungan yang besar terhadap antigen yang masuk melalui saluran pencernaan dan pernapasan.

4. Ig D

Ig D memiliki fungsi utama sebagai reseptor antigen atau dengan kata lain sebagai pengenalan antigen oleh sel B.

5. Ig E

Ig E berperan dalam terjadinya peristiwa alergi. Selain itu juga berperan dalam membantu tubuh dalam melawan infeksi cacing (19).

Untuk melakukan produksi antibodi, setidaknya diperlukan empat jenis sel diantara APC (*antigen presenting cell*), sel B, dan dua jenis sel pengatur.

Sel B

Sel B naif atau disebut sel plasma merupakan sel yang memproduksi antibodi. Sel-sel ini mempunyai imunoglobulin pada permukaannya. Pada tahap awal, sel B pertama membentuk rantai intraseluler dan kemudian IgM. Melalui proses tersebut, sel-sel ini nantinya dapat membentuk IgG, IgA, atau IgE, dikenal sebagai perpindahan isotipe. Jenis akhir imunoglobulin pada permukaan menentukan jenis antibodi yang dibentuk.

Sel T

Sel T helper hanya dapat merespons antigen melalui makrofag antigen kelas II MHC sebagai kompleks yang dibentuk pada sel APC. Kemudian akan mengenali kombinasi antigen yang sama dan antigen MHC kelas II pada sel B yang sesuai. Setelah itu barulah sel T helper mengeluarkan sitokin untuk mengaktifkan suatu reaksi. Ketika sel T helper terpapar antigen untuk pertama kalinya, hanya sejumlah sel yang diaktifkan untuk memberikan bantuan bagi sel B. Namun, ketika telah terpapar kembali, ada peningkatan yang nyata dari sel T helper spesifik.

Diferensiasi Sel T

Sel T memiliki karakteristik glikoprotein permukaan sel yang berfungsi sebagai penanda diferensiasi sel-sel. Penanda ini dikenali oleh antibodi

monoklonal spesifik dan membaginya menjadi dua bagian tertentu. Pada manusia, sel TH1 memiliki fungsi utama untuk perlindungan terhadap patogen intraseluler sementara sel TH2 berinteraksi dengan penyakit yang ditandai oleh produksi antibodi termasuk IgE.

Imunitas seluler

Respons yang dihasilkan sel akan diimplementasikan oleh limfosit T. Fungsi utama sel T dapat dibagi menjadi dua kategori: yang pertama (sitotoksitas) adalah melisis sel yang antigen spesifik, kedua (hipersensitivitas tertunda) adalah melepaskan sitokin, sehingga memicu terjadi respons peradangan. Kedua jenis sel ini digunakan untuk memerangi patogen intraseluler seperti virus, bakteri, dan parasit yang tidak dapat diakses oleh antibodi.

Molekul Efektor Nonspesifik

Terdapat sejumlah molekul tidak spesifik yang dapat memengaruhi respons imun, terutama dalam produksi antibodi. Diantaranya adalah sel-sel fagosit seperti neutrofil dan makrofag, yang menghilangkan antigen dan bakteri dan komplemen yang dapat menghancurkan organisme atau memfasilitasi agar terjadi kehancuran (25).

2.2.6 Imunomodulator

Sistem imun tubuh yang terganggu dapat diperbaiki atau disembuhkan dengan pemberian bahan-bahan yang disebut golongan imunomodulator. Imunomodulator adalah kelompok senyawa tertentu yang dapat mempengaruhi kualitas dan intensitas respon imun. Fungsi imunomodulator tersebut adalah memperbaiki sistem imun dengan cara mengembalikan fungsi sistem imun yang terganggu (imunorestorasi), menstimulasi sistem imun tersebut (imunostimulan) atau dengan menekan/ menormalkan reaksi imun yang abnormal (imunosupresan) (4).

Imunomodulasi adalah cara untuk mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang fungsinya telah mengalami perubahan atau untuk menekan fungsi yang berlebihan. Obat-obatan yang dapat mengembalikan perubahan fungsi

sistem imun disebut imunomodulator. Obat golongan imunomodulator memiliki tiga cara dalam melakukan kerja, yaitu imunorestorasi, imunostimulasi dan immunosupresi. Imunorestorasi dan imunostimulasi dapat disebut imunopotensiasi atau *up regulation* sedangkan immunosupresi disebut juga *down regulation* (1).

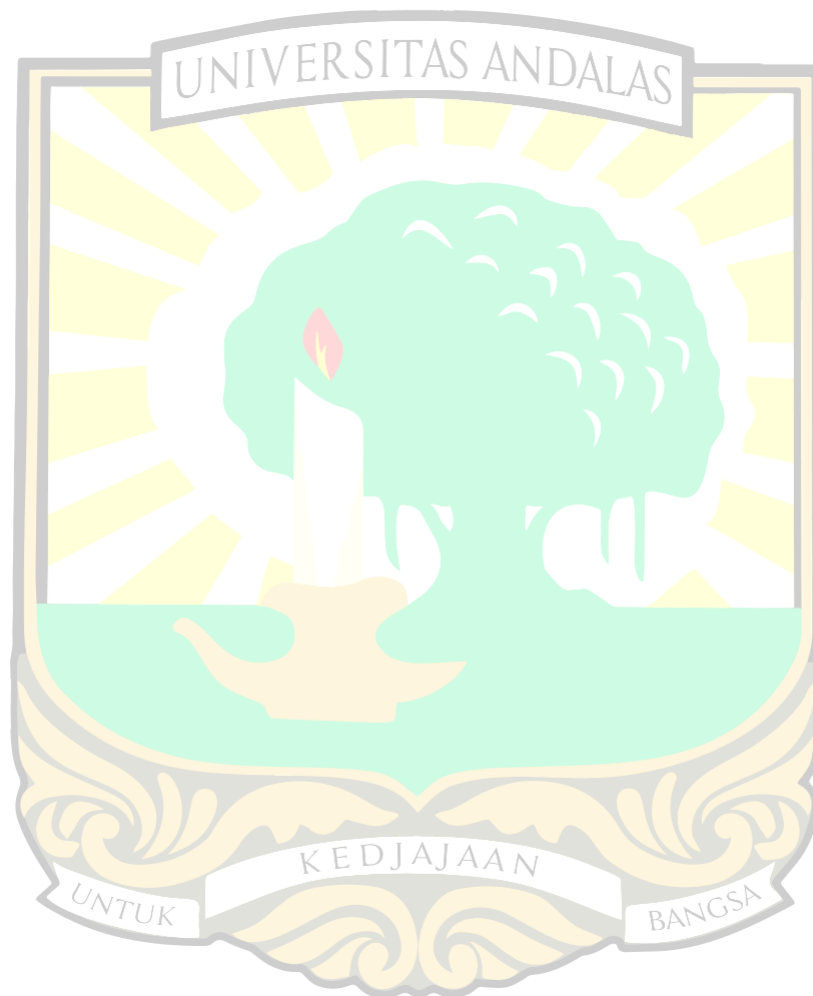
Menurut Block dan Mead (2003) imunomodulator adalah substansi atau obat yang dapat mempengaruhi fungsi dan aktivitas sistem imun. Imunomodulator dibagi menjadi 3 kelompok yaitu imunostimulator, imunoregulator dan immunosupresor. Kebanyakan tanaman obat yang telah diteliti membuktikan adanya efek imunostimulator, sedangkan untuk immunosupresor masih sedikit dijumpai. Pemakaian tanaman obat sebagai imunostimulator bertujuan untuk menekan atau mengurangi infeksi virus dan bakteri intraseluler, untuk mengatasi immunodefisiensi atau sebagai perangsang sel-sel pertahanan tubuh untuk berkembang lebih baik dalam sistem imunitas (26).

Imunorestorasi adalah suatu cara dalam mengembalikan fungsi sistem imun yang terganggu dengan memberikan berbagai komponen sistem imun, seperti immunoglobulin dalam bentuk *immune serum globulin* (ISG), *hyperimmune serum globulin* (HSG), plasma dan transplantasi sumsum tulang, jaringan hati, timus, *plasmapheresis* (penghilangan plasma) dan *leukopheresis* (penghilangan leukosit) (1).

Imunostimulasi adalah cara memperbaiki fungsi sistem imun dengan menggunakan bahan yang dapat merangsang sistem imun tersebut. Imunostimulan atau disebut juga imunopotensiasi adalah bahan obat yang dapat menstimulasi sistem imun non spesifik pada sistem pertahanan tubuh. Bahan obat ini dapat disebut juga imunostimulator yang dibagi menjadi dua jenis, yaitu biologi dan sintetik. Imunostimulator biologi terdiri dari hormon timus, interferon, limfokin, antibodi monoklonal, dan bahan yang dihasilkan dari bakteri dan jamur. Imunostimulator sintetik terdiri dari levamisol, isoprinosin, dan muramil dipeptida (1)

Imunosupresi adalah suatu tindakan yang bertujuan menekan respon imun. Imunosupresan berfungsi dalam proses transplantasi organ tubuh dengan

mekanisme usaha mencegah reaksi penolakan yang diberikan tubuh dan pada penyakit autoimun untuk menghambat pembentukan antibodi. Imunosupresan umumnya tidak ditujukan untuk antigen spesifik (1).



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama \pm 5 bulan dari Agustus sampai Desember 2020 di Laboratorium Serologi-Imunologi, Laboratorium Penelitian, Laboratorium Kimia Farmasi, dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang.

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*), gunting bedah, beaker glass (*Pyrex*), timbangan hewan, timbangan analitik, stopwatch, mikropipet (*Eppendorf*), gelas ukur (*Pyrex*), labu ukur (*Pyrex*), labu erlenmeyer (*Pyrex*), kaca objek, kaca arloji, plat tetes, mortir dan stamper, tabung reaksi (*Pyrex*), rak tabung reaksi, pinset, vial, spatel, alat sonde, pipet leukosit (*Assistent*), alat hemasitometer (*Assistent*), rotary evaporator (*Buchi*), spektrofotometer UV-Vis (*Thermo Scientific*), dan Mikroskop.

3.2.2 Bahan

Daun tumbuhan kersen (*Muntingia calabura* L.), air suling etanol 96%, Na CMC, heksan, etil asetat, metanol (*Brataco*), larutan NaCl fisiologis 0,9% (*Widatra*), tube EDTA (*Vaculab*), pewarna giemsa (*Merck*), tinta cina (*Yamura*), asam asetat 1% (*Merck*), reagen Turk (*Indo Reagen*), Mg, HCl (p), HCl 2N, FeCl₃, HCl 2N, pereaksi Liberman Burchard, Mayer, Dragendorff, dan Imboost®

3.2.3 Hewan Percobaan

Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan sebanyak 25 ekor dengan berat badan 25-30 gram, umur 2-3 bulan, sehat dan belum pernah mendapat perlakuan terhadap obat.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun tumbuhan kersen (*Muntingia calabura*) yang diambil di Padang.

3.3.2 Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Herbarium Andalas, jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas.

3.3.3 Penyiapan Simplisia

Daun tumbuhan kersen dibersihkan dari pengotornya, dirajang dengan ukuran \pm 2-3 cm dan kering anginkan sampai kadar air \leq 10%. Setelah itu disortasi kering dan dihaluskan dengan cara di blender kemudian diperoleh serbuk simplisia (27).

3.3.4 Pembuatan Ekstrak

Daun tumbuhan kersen yang telah telah digrinder halus, dimaserasi menggunakan etanol 70%. Masukkan serbuk simplisia kering ke dalam maserator, rendam selama 5 hari sambil sekali-kali diaduk, kemudian disaring dengan menggunakan kapas, ulangi maserasi sampai diperoleh maserat yang jernih dengan cara yang sama. Filtrat yang diperoleh dari masing-masing bejana dikumpulkan dan diaduk hingga rata lalu diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40-60°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang (27).

3.4 Karakterisasi Ekstrak Etanol Tumbuhan Kersen

3.4.1 Penentuan Rendemen

Sampel yang telah dibersihkan ditimbang (A) dan ekstrak diperoleh ditimbang kembali (B). Rendemen dihitung dengan rumus (27).

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

Keterangan : A = berat sampel awal (g)

B = berat ekstrak yang diperoleh (g)

3.4.2 Parameter Non Spesifik (28).

1. Parameter Susut Pengerinan

Bertujuan untuk menunjukkan batas maksimum (rentang) senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Krus porselen dipanaskan dalam oven 105°C selama 30 menit, kemudian didinginkan dalam desikator dan berat awal di timbang (w0). Masukkan ekstrak sebanyak 1-2 gram kedalam krus tersebut dan di timbang kembali (w1). Kemudian krus di goyang secara perlahan-lahan agar ekstrak merata. Masukkan ke dalam oven, buka tutup krus dan biarkan krus terbuka dalam oven. Panaskan selama 1 jam pada suhu 105°C, dinginkan dalam desikator kemudian timbang kembali. Ulangi perlakuan diatas hingga di peroleh bobot tetap. Hasil penimbangan dicatat, dan dihitung susut pengeringannya dengan persamaan :

$$\% \text{ Susut Pengerinan} = \frac{(w1-w0)-(w2-w0)}{w1-w0} \times 100 \%$$

Keterangan : w0 = Berat krus kosong (g)

w1 = Berat krus + sampel sebelum dipanaskan (g)

w2 = Berat krus + sampel setelah dipanaskan (g)

2. Penetapan Kadar Abu Total

Bertujuan untuk memberi gambaran kandungan minimal internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Sebanyak 2-3 gram simplisia dimasukkan ke dalam krus yang telah dipijarkan ditara, dan ratakan. Pijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan, dan ditimbang. Jika arang tidak dapat hilang, maka tambahkan air panas, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa kertas saring dalam krus yang sama. Masukkan filtrat ke dalam krus, uapkan, lalu pijarkan hingga bobot tetap, lalu ditimbang. Hitung kadar abu terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara, dengan persamaan:

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{w_2 - w_0}{w_1 - w_0} \times 100 \%$$

Keterangan : w_0 = Berat krus kosong

w_1 = Berat krus + ekstrak

w_2 = Berat krus + hasil pemijaran

3.4.3 Parameter Spesifik

1. Pemeriksaan Organoleptis

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

2. Profil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tumbuhan Kersen

Ekstrak daun tumbuhan kersen dilarutkan dengan metanol kemudian totolkan dengan kapiler pada plat aluminium silika gel 60 F₂₅₄. Fase gerak yang digunakan yaitu fase gerak n-heksan, etil asetat dan metanol. Totolkan larutan uji dan larutan pembanding dengan jarak 1 cm dari tepi bawah lempeng, dan biarkan mengering. Tempatkan lempeng pada rak penyangga, hingga tempat penotolan terletak di sebelah bawah dan masukkan rak ke dalam bejana kromatografi. Larutan pengembang dalam bejana harus mencapai tepi bawah lapisan penjerap.

Letakkan tutup bejana pada tempatnya dan biarkan sistem hingga fase gerak merambat sampai batas jarak rambat. Keluarkan lempeng dan keringkan di udara, amati bercak dengan sinar ultraviolet (UV) panjang gelombang 254 nm. Ukur dan catat jarak tiap bercak yang diamati (29).

Tentukan harga Reterdation factor (Rf) dengan rumus :

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

3.4.4 Skrining Fitokimia Ekstrak Tumbuhan Kersen (30).

1. Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 5 tetes etanol, lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu ditambahkan serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Jika menghasilkan warna kuning, orange, dan merah menandakan adanya flavonoid.

2. Pemeriksaan Fenolik

Sebanyak 3 tetes ekstrak kental diteteskan pada plat tetes. Kemudian ditambahkan dengan etanol, lalu diaduk sampai homogen. Setelah itu ditambahkan FeCl₃. Adanya fenolik ditandai dengan terbentuknya warna hijau, kuning, orange, atau merah.

3. Pemeriksaan Saponin

Sebanyak 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 2 ml aquades, lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu dipanaskan selama 2-3 menit. dinginkan, setelah dingin kocok dengan kuat. Adanya busa yang stabil selama 30 detik menunjukkan sampel mengandung saponin.

4. Skrining Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak sebanyak 100 mg dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 1 ml etanol 70%. Ekstrak kemudian ditambahkan pereaksi Lieberman Burchard. Terbentuknya warna biru atau hijau menandakan positif steroid, sedangkan terbentuknya warna merah muda atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid.

5. Pemeriksaan Alkaloid

Sejumlah lebih kurang 1 ml ekstrak ditambah 1,5 ml HCl 2%, dipanaskan sambil dikocok di atas penangas air, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh

dibagi menjadi 2 bagian. Filtrat pertama ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Meyer, sedangkan filtrat kedua ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Dragendorff. Adanya senyawa alkaloid ditunjukkan oleh endapan putih dengan pereaksi Meyer dan endapan coklat jingga dengan pereaksi Dragendorff pada masing-masing filtrat.

3.4.5 Persiapan Hewan Percobaan

Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan umur 2-3 bulan dengan berat antara 25-30 gram sebanyak 25 ekor. Sebelum diperlakukan mencit diaklimatisasi dalam ruangan penelitian selama 7 hari dengan diberi makan dan minum yang cukup. Hal ini bertujuan untuk penyesuaian lingkungan mengontrol kesehatan dan berat badan, hewan yang sakit dengan tanda-tanda bulu berdiri, aktivitas motorik dan berat badan menurun tidak dipakai dalam penelitian. Hewan yang digunakan adalah mencit yang sehat yakni bb selama diaklimatisasi tidak mengalami perubahan lebih dari 10% dan secara visual menunjukkan perilaku yang normal.

3.4.6 Penyiapan Sediaan Uji

1. Perencanaan Dosis

Sebanyak 25 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor mencit setiap kelompok, yang diberi perlakuan secara peroral 1 kali sehari selama 6 hari, yaitu:

- a. Kelompok I yaitu kelompok mencit kontrol negatif hanya diberi larutan Na CMC 0,5 %.
- b. Kelompok II yaitu kelompok mencit kontrol positif yang diberikan imboost cair dosis 15 mg/kg BB.
- c. Kelompok III yaitu kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun tumbuhan kersen dosis 50 mg/Kg BB.
- d. Kelompok IV yaitu kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun tumbuhan kersen dosis 100 mg/Kg BB.
- e. Kelompok V yaitu kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun tumbuhan kersen dosis 200 mg/kg BB.

2. Pembuatan Suspensi Ekstrak Daun Tumbuhan Kersen

Suspensi Na CMC 0,5% dibuat dengan cara Na CMC ditimbang 50 mg dikembangkan dengan air panas 20 kalinya, setelah mengembang digerus hingga homogen, kemudian ditambahkan ekstrak daun tumbuhan kersen sesuai dengan konsentrasi ekstrak yang telah direncanakan, digerus homogen dan dicukupkan dengan aquadest sampai volume 100 ml.

Konsentrasi ini dapat ditetapkan berdasarkan rumus :

$$\text{Konsentrasi (mg/ml)} = \frac{\text{Dosis } \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}}\text{BB}\right) \times \text{Berat Badan } \left(\frac{\text{kg}}{\text{BB}}\right)}{\text{Volume Administrasi Obat (mL)}}$$

3. Pemberian Senyawa Uji

Mencit dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, kelompok dosis 50 mg/kgbb, kelompok 100 mg/kgbb, dan kelompok 200 mg/kgbb. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Mencit diberikan senyawa uji secara per oral selama enam hari. Volume senyawa uji yang diberikan untuk 20 gram mencit berdasarkan perhitungan volume administrasi obat (VAO).

$$\text{VAO} = 1\% \text{ BB mencit}$$

Keterangan :

VAO : Volume Administrasi Obat

4. Penetapan Kadar Karbon

Sebanyak 5 gram tinta cina ditimbang dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Pengeringan kemudian dilanjutkan dalam desikator sampai berat konstan (31).

5. Pembuatan Suspensi Karbon Koloid

Sebanyak 1,6 gram tinta cina yang telah diuapkan, disuspensikan dengan Na CMC 0,5% (b/v) dalam 25 mL larutan NaCl fisiologis 0,9% (b/v) hingga diperoleh konsentrasi 64 mg/ml (6,4%) (29).

6. 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 2, 3, 4,

5, 6 mL dan dicukupkan dengan asam asetat 1% hingga volume 50 mL, sehingga didapatkan konsentrasi kadar karbon 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm. Dari masing-masing kadar tersebut dipipet sebanyak 4 mL dan ditambahkan darah mencit yang diambil dari vena ekor sebanyak 75 μ L. Setelah dihomogenkan, ukur absorbannya 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 (31).

3.4.7 Uji Aktivitas Imunomodulator

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

Mencit dibagi menjadi lima kelompok yang terdiri atas kelompok kontrol positif diberi imboost, kelompok kontrol negatif diberi suspensi Na CMC 0,5%, tiga kelompok yang diberi sediaan ekstrak daun tumbuhan kersen. Pemberian sediaan uji dilakukan secara oral 1 kali sehari selama 6 hari berturut-turut pada hewan percobaan sesuai dengan dosis. Pada hari ketujuh setelah pemberian suspensi sediaan, ekor mencit diolesi metanol dengan menggunakan kapas agar pembuluh vena ekor berdilatasi, kemudian ujung ekor mencit dipotong dan darah ditampung pada plat tetes yang ditetesi heparin hingga homogen. Darah diambil sebanyak 25 μ l dan ditambahkan 4 mL asam asetat 1%. Contoh darah pertama ini dinamakan contoh blanko (menit ke-0). Kemudian suspensi karbon 0,1 mL/10 gram BB disuntikkan secara intravena. Darah mencit diambil 25 μ L pada menit ke 3, 6, 9, 12, dan 15 setelah penyuntikan karbon. Masing-masing darah ditambahkan 4 mL asam asetat 1%, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 650 nm (31).

Perhitungan konstanta fagositosis dengan rumus sebagai berikut:

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

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 = Periode pengambilan (1, 2, 3, 4, 5)

Perhitungan harga indeks fagositosis dengan rumus sebagai berikut :

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

Keterangan :

IF = Indeks fagositosis Mencit

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

2. Perhitungan Persentase Jenis Sel Leukosit dengan Hapusan Darah

Darah yang digunakan adalah darah segar pada prosedur uji bersihan karbon. Darah segar ditetesi pada kaca objek satu tetes darah ditetaskan di atas kaca objek dan diratakan dengan kaca objek lain sehingga diperoleh lapisan darah yang homogen (hapusan darah), lalu dikeringkan. Setelah kering ditetesi dengan metanol, sehingga melapisi seluruh hapusan darah, dibiarkan selama 5 menit. Lalu ditambahkan satu tetes larutan giemsa yang telah diencerkan dengan air suling dan dibiarkan selama 20 menit, cuci dengan air suling, dikeringkan. Setelah kering, tetesi sedikit minyak emersi, dan dilihat dibawah mikroskop. Dihitung jumlah sel eusinofil, neutrofil batang, limfosit, dan monosit dibawah mikroskop perbesaran 1000x (32).

Perhitungan jenis sel leukosit dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Persentase sel leukosit} = \frac{n}{t} \times 100 \%$$

Keterangan :

n : jumlah sel eusinofil/neutrophil batang/ neutrophil segmen/
limfosit/monosit

t : waktu yang diperlukan untuk menentukan setelah menit ke 20

3. Perhitungan Total Sel Leukosit Darah dengan Haemocytometer

Darah segar yang diberi EDTA dihisap dengan pipet leukosit sampai angka 0,5 kemudian dihisap larutan turk sampai tanda 11 selanjutnya dikocok selama 3 menit dengan alat dari dalam pipet 1-2 tetes dibuang dan pada kamar

hitung haemocytometer diteteskan satu tetes. Biarkan cair selama 2 menit agar leukosit mengendap (32).

Hitung jumlah leukosit pada keempat sudut kamar hitung dengan rumus :

$$\text{Total sel leukosit} = \text{Jumlah sel leukosit} \times \frac{20}{0,4}$$

Keterangan :

Faktor pengenceran = 20

Ukuran kamar hitung = 0,4

4. Perhitungan Bobot Limpa Relatif

Mencit dibedah dan limpa yang berada disebelah kiri rongga perut yang berwarna merah kehitaman diambil dan dibersihkan dari lemak yang menempel lalu ditimbang dengan timbangan analitik (32).

Persen bobot limpa relatif dapat dihitung dengan rumus :

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

3.4.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah indeks fagositosis, persentase jenis sel leukosit, dan jumlah total sel leukosit dianalisis secara statistik dengan ANOVA. Metode uji statistik analisis varian pada uji aktivitas imunomodulator adalah menggunakan ANOVA dua arah, sedangkan pada jumlah total sel leukosit persentase jenis sel leukosit, dan bobot limpa relatif menggunakan ANOVA satu arah. Jika hasil yang diperoleh signifikan ($P \leq 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji Duncan (*Duncan New Multiple Range Test*) menggunakan software statistik SPSS 24 for Windows Evaluation. Uji Duncan berfungsi untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan hasil antara masing-masing kelompok perlakuan.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian yang dilakukan dalam mengetahui aktivitas imunomodulator ekstrak etanol daun kersen dengan metode *carbon clearance* pada mencit putih jantan. Sampel yang digunakan merupakan daun tumbuhan kersen. Daun kersen yang digunakan tersebut diperoleh dari pohon kersen di daerah Kapal Koto, Kecamatan Pauh, Padang, Sumatera Barat. Berdasarkan surat hasil identifikasi sampel yang dikeluarkan oleh Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, menunjukkan bahwa sampel daun yang digunakan tersebut benar merupakan daun tumbuhan kersen spesies (*Muntingia calabura* L.) yang termasuk kedalam famili Muntingiaceae. Tanaman ini sering digunakan sebagai bahan dalam pengobatan tradisional, diantaranya untuk obat penyakit asam urat, diabetes, serta sebagai anti bakteri (12). Arisandi (2008) juga menyatakan bahwa senyawa kimia golongan flavonoid yang terdapat pada tumbuhan kersen berfungsi sebagai antiinflamasi dan antiseptik (6).

Proses pembuatan ekstrak daun kersen dimulai dengan melakukan perajangan pada sampel segar yang telah diambil sebelumnya sejumlah 250 g. Sampel tersebut kemudian dikeringkan pada suhu ruangan dan terkena oleh sinar matahari langsung untuk mencegah adanya penguraian zat yang terkandung dalam sampel tersebut. Setelah sampel kering, sampel diginder dan didapatkan hasil serbuk simplisia halus daun kersen. Proses penghalusan tersebut bertujuan untuk memperbesar luas permukaan sampel sehingga pelarut dapat lebih mudah berpenetrasi dan dapat meningkatkan proses penarikan zat aktif oleh pelarut pada saat dilakukan proses ekstraksi. Sebanyak 125 g serbuk simplisia didapatkan dari hasil proses sebelumnya, kemudian dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi.

Proses penyarian sampel dilakukan menggunakan metode maserasi, metode ini dipilih karena pelaksanaannya sederhana, mudah untuk dilakukan dan juga bisa menghindari adanya kemungkinan terjadinya penguraian zat aktif yang terkandung pada sampel akibat pengaruh suhu, karena pada metode maserasi tidak

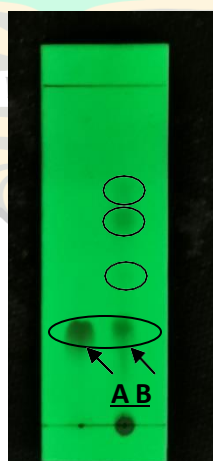
ada proses pemanasan (29). Proses maserasi dilakukan dengan melakukan perendaman serbuk simplisia menggunakan etanol 70% selama 24 jam dan dilakukan pengulangan perendaman sebanyak 3 kali. Perendaman serbuk simplisia dilakukan untuk melunakkan dan menghancurkan dinding sel tumbuhan sehingga lebih mudah dalam melepaskan zat fitokimia ke dalam pelarut. Karena sampel yang digunakan adalah sampel kering, maka pelarut yang digunakan pada proses maserasi adalah etanol 70%. Pelarut etanol 70% digunakan karena merupakan pelarut yang bersifat universal, dimana pelarut tersebut mampu melarutkan senyawa polar, semipolar maupun nonpolar. Pelarut etanol 70% juga cenderung tidak toksik bagi hewan uji yang diberikan, dapat mencegah terjadinya pertumbuhan mikroorganisme, dan mudah didapat. Selain itu etanol 70 % juga memiliki kemampuan dapat mengendapkan protein dan dapat menghambat kerja enzim sehingga lebih terhindar dari terjadinya proses hidrolisis dan oksidasi. Rendaman maserasi tidak lupa jua dikocok setiap hari karena proses pengocokkan bertujuan agar pelarut dapat mengalir dan berpenetrasi keseluruhan permukaan sampel.

Hasil maserasi tumbuhan kersen kemudian diuapkan dan dipekatan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan tujuan untuk mendapatkan hasil ekstrak kental daun kersen. Dari hasil *rotary* yang telah dilakukan, didapatkan ekstrak kental daun kersen sebanyak 21,25 g dengan perolehan nilai rendemen sebesar 17%. Nilai rendemen tersebut berkaitan dengan sedikit atau banyaknya kandungan senyawa bioaktif yang terkandung pada tumbuhan tersebut. Selain itu, pemeriksaan rendemen bertujuan juga untuk mengetahui persentase ekstrak yang diperoleh dari berat sampel awal, dan juga untuk mengetahui kemampuan pelarut menarik zat aktif yang terkandung didalam sampel.

Setelah didapatkan ekstrak kental daun kersen maka dilakukan standarisasi ekstrak. Tujuan dilakukanya standarisasi ekstrak adalah untuk mendapatkan ekstrak yang aman dan teruji stabilitasnya, sehingga ekstrak yang didapatkan tersebut memiliki kualitas yang baik. Standarisasi ekstrak yang dilakukan meliputi parameter spesifik dan parameter non spesifik. Parameter spesifik mencakup aspek kualitatif dan kuantitatif dari kandungan senyawa kimia yang memiliki aktivitas farmakologis tertentu, dan parameter non spesifik yang terkait pada

keamanan konsumen dan stabilitas sediaan yang telah dibuat. Standarisasi parameter spesifik yang dilakukan yaitu uji organoleptis dan kromatografi lapis tipis (KLT). Pada uji organoleptis yang telah dilakukan diperoleh ekstrak etanol daun kersen memiliki bentuk kental, berwarna coklat kehitaman, beraroma khas daun, dan memiliki rasa yang pahit. Pemeriksaan organoleptis ini bertujuan dalam mengetahui bentuk, warna, bau, dan rasa dari ekstrak yang diperoleh agar mudah dikenali dan memiliki kriteria yang serupa dengan tumbuhan kersen.

Selanjutnya dilakukan uji KLT, uji KLT bertujuan untuk menentukan banyaknya komponen senyawa dalam ekstrak, identifikasi senyawa, menentukan efektivitas pemurnian dan juga mempertegas hasil yang didapatkan dari skrining fitokimia yang dilakukan. Fase gerak yang digunakan pada uji ini merupakan n-heksan:etil asetat dengan jumlah perbandingan 6:4. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 F254. Pada uji KLT yang dilihat di bawah sinar UV 254 nm didapatkan hasil jarak tempuh senyawa kuarsetin sejauh 1,40 cm, dan jarak tempuh ekstrak etanol daun kersen sejauh 1,40 cm. Hasil KLT yang didapatkan memiliki nilai Rf dari senyawa kuarsetin diperoleh hasil 0,35 dan nilai Rf dari ekstrak etanol daun kersen diperoleh hasil 0,35. Dari hasil yang diperoleh tersebut menunjukkan bahwa adanya persamaan nilai Rf dari senyawa identitas kuarsetin dan ekstrak etanol daun kersen, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kersen yang dibuat mengandung senyawa kuarsetin dan memenuhi persyaratan Rf yang telah ditentukan (33).



Gambar 1. Hasil KLT ekstrak etanol daun kersen dengan fase gerak heksan:etil asetat (6:4) yang dilihat di bawah sinar UV 254 nm. Keterangan: A =

Kuersetin, B = Ekstrak Etanol Daun Kersen, Rf = 0,35

Pada uji penetapan kadar abu total yang dilakukan, penetapannya dilakukan dengan pengabuan ekstrak daun kersen dalam krus di dalam tanur pada suhu 700°C. Disini terjadi pemanasan pada sampel didalam temperatur dimana senyawa organik terdestruksi dan menguap, sehingga hanya menyisakan unsur mineral dan anorganik. Tujuan dilakukan penetapan kadar abu total adalah untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak dan untuk mengontrol banyaknya jumlah pencemar benda-benda organik. Menurut Farmakope Herbal Indonesia, kadar abu total yang baik adalah tidak melebihi 10%. Nilai kadar abu seharusnya berbanding lurus dengan jumlah pencemar anorganik pada ekstrak yang diuji dimana semakin besar nilai kadar abu total maka semakin besar juga jumlah cemaran anorganik yang diperoleh. Pada hasil yang didapatkan, nilai kadar abu total yang didapat dari ekstrak etanol daun kersen adalah sebesar 0.66%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa cemaran yang terkandung dalam ekstrak daun kersen yang diuji sangat sedikit.

Selanjutnya dilakukan uji berupa penetapan susut pengeringan. Nilai susut pengeringan menunjukkan jumlah maksimal senyawa yang menguap atau hilang selama proses pengeringan. Farmakope Herbal Indonesia menyatakan syarat untuk susut pengeringan yang baik adalah tidak lebih dari 11%. Nilai susut pengeringan yang didapatkan dari ekstrak etanol daun kersen sebesar 27%. Hasil yang didapatkan ini jauh lebih besar dari standar Farmakope Herbal Indonesia tersebut. Namun hasil yang diperoleh ini tidak terlalu jauh berbeda dengan hasil yang diperoleh pada penelitian oleh Sentat (2016) sebesar 28,02% (34).

Setelah itu dilakukan pengujian skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol daun kersen. Skrining fitokimia tersebut bertujuan dalam mengetahui golongan metabolit sekunder yang ada di dalam ekstrak yang diperoleh. Pengujian dilakukan dengan melakukan pemereaksian ekstrak dengan pereaksi yang spesifik. Skrining fitokimia yang dilakukan tersebut meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, steroid/terpenoid dan fenolik. Berdasarkan hasil skrining fitokimia diperoleh bahwa ekstrak daun kersen positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, fenolik, dan saponin. Hasil studi juga menjelaskan

kandungan flavonoid dari daun kersen yang telah dibuat ekstrak metanol dan ekstrak etanol mengandung flavonoid jenis auron, flavon dan flavonol. Hal tersebut sama dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan daun kersen mengandung berbagai senyawa bioaktif yaitu senyawa flavonoid, saponin, triterpen, steroid dan tannin (34).

Pengujian aktivitas imunomodulator ekstrak etanol daun kersen dengan metode *carbon clearance* pada mencit putih jantan menggunakan mencit putih jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 20-30 g sebanyak 25 ekor. Mencit putih jantan dipilih karena memiliki beberapa kelebihan, diantaranya memiliki fisiologis yang serupa dengan manusia, mudah untuk ditangani, mudah dipelihara dan ekonomis untuk digunakan. Selain itu mencit putih jantan lebih stabil dibandingkan dengan mencit betina karena tidak terpengaruh dengan hormon estrogen (1).

Sebelum dilakukan perlakuan, hewan percobaan yang akan digunakan diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari. Tujuan dilakukannya aklimatisasi adalah untuk membiasakan hewan uji dengan lingkungan baru dan agar tidak mengalami stress selama diberikan perlakuan. Mencit yang digunakan merupakan mencit yang tidak memperlihatkan adanya perubahan berat badan yang berarti, dimana selisih maksimal sebelum dan sesudah aklimatisasi sebesar 10%, serta menunjukkan perilaku yang normal. Hasil aklimatisasi yang dilakukan selama 7 hari tersebut menunjukkan dari 25 ekor mencit yang digunakan menunjukkan perilaku yang normal dan tidak ada mengalami sakit. Pada hasil pengukuran berat badan mencit sebelum dan sesudah aklimatisasi didapatkan persen selisih berat badan mencit tertinggi yaitu 9,52% dan selisih berat terendah yaitu 2,90%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa selisih berat seluruh 25 ekor mencit tersebut tidak melebihi 10% dan bisa digunakan sebagai hewan uji.

Mencit kemudian dikelompokkan menjadi 5 kelompok dengan 2 perlakuan yang berbeda yaitu kontrol dan pemberian sediaan uji, dimana masing-masing kelompok tersebut terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok kontrol terbagi menjadi 2, yaitu kontrol negatif yang diberikan Na CMC 0,5 % dan kontrol positif yang diberikan obat imunostimulan (imboost), sedangkan kelompok sediaan uji dibagi menjadi 3 kelompok dosis yang berbeda yaitu kelompok dosis 50 mg/kgbb,

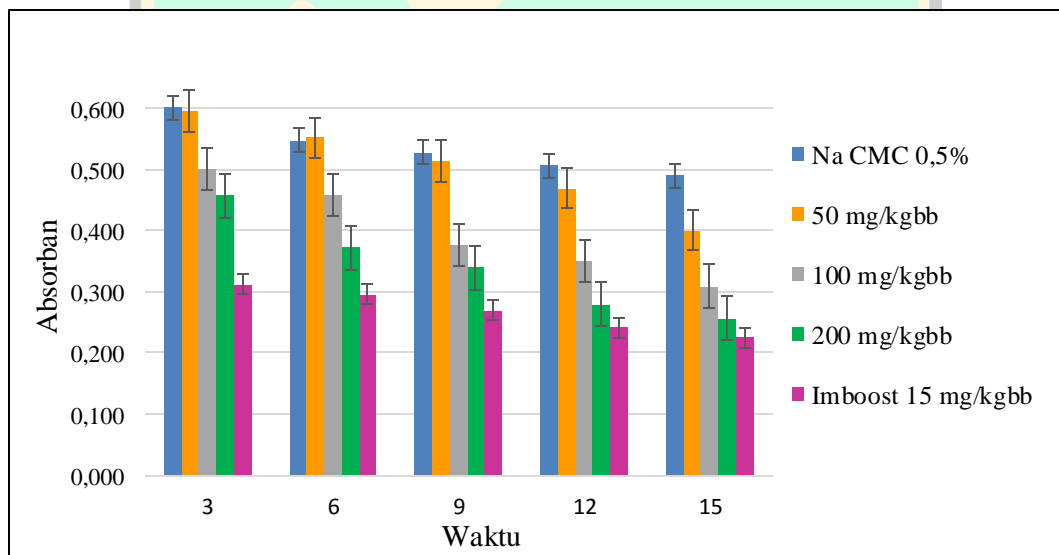
kelompok dosis 100 mg/kgbb, dan kelompok dosis 200 mg/kgbb. Penggunaan variasi konsentrasi ekstrak tersebut bertujuan untuk mengetahui hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak uji dengan efek imunomodulator ekstrak etanol daun kersen yang dihasilkan. Ekstrak kental daun kersen dibuat dalam bentuk suspensi dengan Na CMC 5% karena ekstrak tersebut tidak larut sempurna dalam air. Na CMC 5% dipilih karena memiliki sifat inert, tidak menimbulkan iritasi, tidak toksik dan tidak mempengaruhi zat aktif. Suspensi ekstrak dibuat sesuai dengan dosis yang telah ditetapkan sebelumnya dan diberikan selama 7 hari agar ekstrak etanol daun kersen tersebut dapat mempengaruhi dan memberikan efek pada sistem imun mencit.

Pengujian aktivitas imunomodulator yang dilakukan dalam penelitian tersebut terdiri dari respon imun nonspesifik dan respon imun spesifik. Uji respon imun nonspesifik dilakukan dengan metoda carbon clearance, perhitungan persentase jenis sel leukosit dengan metode hapusan darah dan jumlah total sel leukosit yang menggunakan alat haemocytometer, sedangkan respon imun spesifik dilakukan dengan perhitungan bobot limpa relatif (32). Bersihan karbon merupakan pengujian kemampuan fagositosis dengan menggunakan karbon sebagai antigen yang diberikan secara intravena. Karbon akan berkurang jumlahnya dalam darah seiring pertambahan waktu, karena adanya peristiwa fagositosis oleh sel-sel leukosit.

Metoda carbon clearance merupakan suatu pengujian aktivitas imunomodulator nonspesifik secara spektrofotometri dengan pengukuran bersihan karbon didalam darah hewan percobaan pada waktu pengujian yaitu pada waktu 3, 6, 9, 12, dan 15 menit (32). Karbon yang digunakan adalah tinta cina. Tinta cina digunakan karena kestabilannya didalam darah dan tidak menyebabkan penyumbatan pembuluh darah dan paru-paru. Selain itu, karbon juga memiliki karakteristik sebagai antigen karena keterasingannya yang dalam keadaan normal tidak terdapat didalam tubuh. Hasil penetapan kadar karbon tinta cina yang digunakan adalah 25,06 %. Suspensi karbon dengan konsentrasi 1% (b/v) dan ditambah NaCl fisiologis 0,9% hingga diperoleh konsentrasi 64 mg/ml (6,4%). Penggunaan NaCl fisiologis pada pembuatan suspensi bertujuan agar kondisi sediaan suspensi karbon (tinta cina) sama dengan kondisi tubuh hewan uji

(isotonis).

Untuk dapat melihat efek fagositosis dari ekstrak etanol daun kersen, maka dibuat kurva baku antara kadar karbon di dalam darah dengan nilai absorban. Nilai absorban didapatkan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pembuatan kurva baku tersebut bertujuan dalam melihat hubungan linier antara kadar karbon dalam darah mencit dengan arbsorban yang diukur dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 605 nm. Panjang gelombang maksimal karbon pada penelitian sebelumnya yaitu 650 nm dan setelah dilakukan pengukuran kembali maka didapatkan bahwa terjadi pergeseran panjang gelombang maksimal menjadi 605 nm, pergeseran panjang gelombang ini dapat terjadi dikarenakan ada pengaruh faktor lain seperti jenis pelarut yang digunakan, pH larutan, suhu, konsentrasi tinggi dan zat-zat pengganggu (35). Dari hasil penetapan kurva baku karbon didapatkan 2 persamaan regresi $y = 0,0033x + 0,1464$ dengan $R = 0,997$ (Gambar Kurva kalibrasi karbon pada panjang gelombang 605 nm). Nilai persamaan regresi dapat menunjukkan adanya hubungan linear antara konsentrasi karbon didalam darah mencit dengan absorban, semakin tinggi konsentrasi karbon yang didapat dalam darah maka akan semakin tinggi pula nilai absorban (29).



Gambar 2. Diagram absorban suspensi karbon terhadap waktu pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) pada dosis 50, 100, dan 200 mg/kgbb.

Berdasarkan nilai rata-rata absorban karbon dalam darah mencit yang telah dilihat menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 605 nm, terlihat penurunan nilai absorban yang didapat pada semua kelompok yang diberi sediaan apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Semakin rendah menurunnya nilai karbon menandakan semakin sedikitnya konsentrasi karbon yang tertinggal dalam darah mencit. Karbon yang terdapat dalam tubuh akan merangsang pembentukan sistem imun non spesifik berupa sel fagosit. Sel fagosit akan teraktivasi akibat terjadi rangsangan sistem imun nonspesifik dan secara cepat akan mengenali jenis antigen asing yang memasuki tubuh kemudian akan menghancurkan dan membersihkan antigen (karbon) dalam peredaran darah (36).

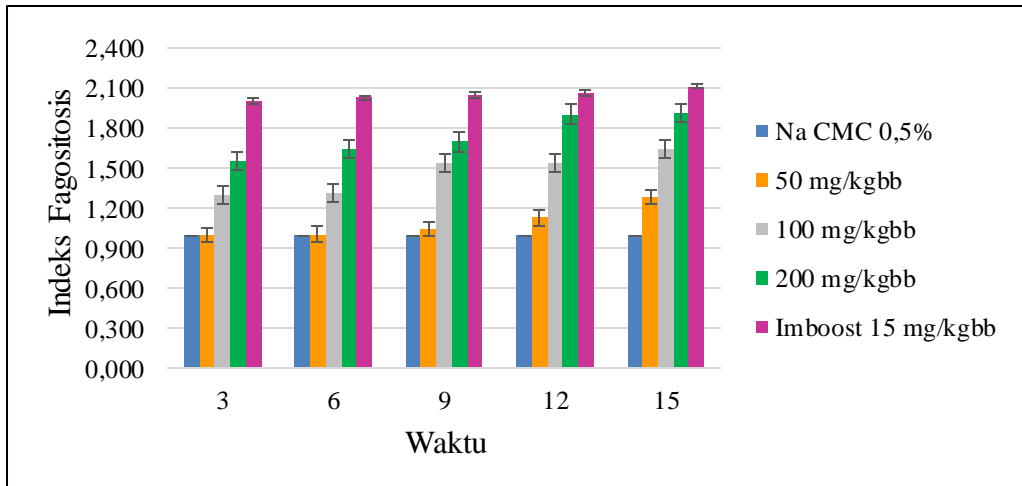
Dari nilai absorban yang didapatkan, kemudian dilanjutkan dengan melakukan perhitungan nilai konstanta fagositosis. Konstanta fagositosis merupakan salah satu parameter fagositosis, apabila semakin besar harga konstanta fagositosis yang diperoleh maka menandakan semakin tinggi bersihan karbon, sehingga semakin cepat sel fagosit berkerja dalam melakukam proses fagositosis. Nilai indeks fagositosis dapat dihitung setelah dilakukan perhitungan nilai konstanta fagositosis. Jika didapatkan nilai rata-rata indeks fagositosisnya kecil dari 1 ($IF < 1$) berarti zat tersebut memiliki aktivitas sebagai immunosupresan (2). Pada hasil penelitian ini, rata-rata nilai indeks fagositosis yang diperoleh lebih besar dari satu ($IF > 1$). Berdasarkan nilai indeks fagositosis tersebut, dapat diartikan bahwa ekstrak etanol daun kersen dosis 50 mg/kgbb, 100 mg/kgbb, dan 200 mg/kgbb bersifat sebagai immunostimulan.

Nilai indeks fagositosis paling tinggi ditunjukkan oleh kelompok dosis 200mg/kgbb, yaitu sebesar $1,745 \pm 0,16$ yang berarti kelompok dosis 200 mg/kg memiliki kemampuan fagositosis yang paling baik diantara kelompok dosis lainnya. Tetapi apabila dibandingkan dengan kelompok pembanding yaitu imboost® cair 15 mg/kgbb, kemampuan fagositosis kelompok dosis 200 mg/kgbb masih lebih rendah (Tabel 3, Halaman 54). Pada pembanding imboost® 15 mg/kgbb mengandung tumbuhan *Echinacea pupurea* yang berperan sebagai immunomodulator. Manfaat *Echinacea pupurea* dalam penyakit infeksi disebabkan

kemampuannya untuk berperan sebagai antiinflamasi dan imunostimulan. *Echinacea pupurea* dapat memacu aktivitas limfosit, meningkatkan fagositosis dan menginduksi produksi interferon (37)

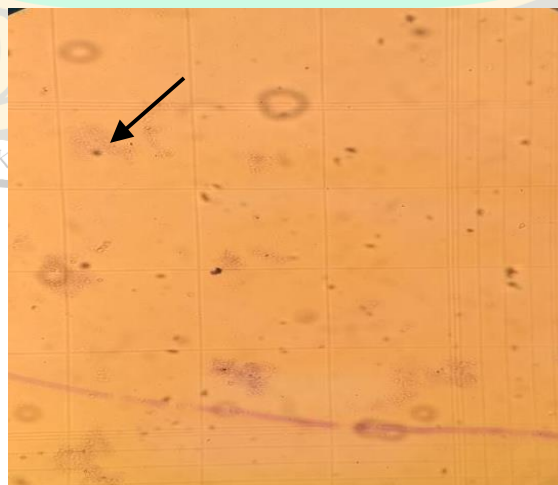
Pada pengujian statistik (ANOVA) dua arah, didapatkan hasil untuk dosis menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) terhadap indeks fagositosis. Pada pengujian terhadap waktu juga menunjukkan terdapat perbedaan nyata terhadap indeks fagositosis ($P < 0,05$) (Lampiran 2, Tabel 15, Halaman 76). Oleh karena itu, untuk melihat perbedaan masing-masing kelompok dilakukan uji lanjut Duncan. Pada tabel hasil uji lanjut Duncan mengenai pengaruh dosis terhadap indeks fagositosis mencit putih jantan menunjukkan adanya perbedaan nyata. Pada ekstrak etanol daun kersen dosis 50 mg/kgbb, dosis 100 mg/kgbb, dosis 200 mg/kgbb, dan kelompok yang diberikan imunostimulan (Imboost) terlihat lebih nyata dibandingkan dengan jumlah sel leukosit total mencit yang diberikan sediaan Na CMC 0,5% (kontrol negatif). Begitu juga pada hasil uji lanjut Duncan pengaruh waktu terhadap indeks fagositosis mencit putih jantan yang menunjukkan adanya perbedaan dimana terlihat 3 substansi. Hasil yang didapatkan pada menit ke-3 dan menit ke-6 berada pada substansi yang sama, terlihat perbedaan lebih nyata pada menit ke-9 dan menit ke-12 yang berada pada substansi berikutnya, dan hasil yang lebih nyata pada menit ke-15. Rata-rata hasil perhitungan konstanta fagositosis pada mencit putih jantan seluruh kelompok kontrol negatif, kelompok dosis 50, 100, 200 mg/kgbb, dan kelompok imboost secara berurutan adalah $1,000 \pm 0,00$, $1,0956 \pm 0,12$, $1,469 \pm 0,15$, $1,745 \pm 0,16$, dan $2,054 \pm 0,04$.

Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kersen berpengaruh terhadap peningkatan indeks konstanta fagositosis mencit putih jantan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Ilaria Peluso (2015) membuktikan bahwa tanaman yang mengandung flavonoid berefek sebagai immunomodulator pada pasien yang mengalami stress inflamasi (38).



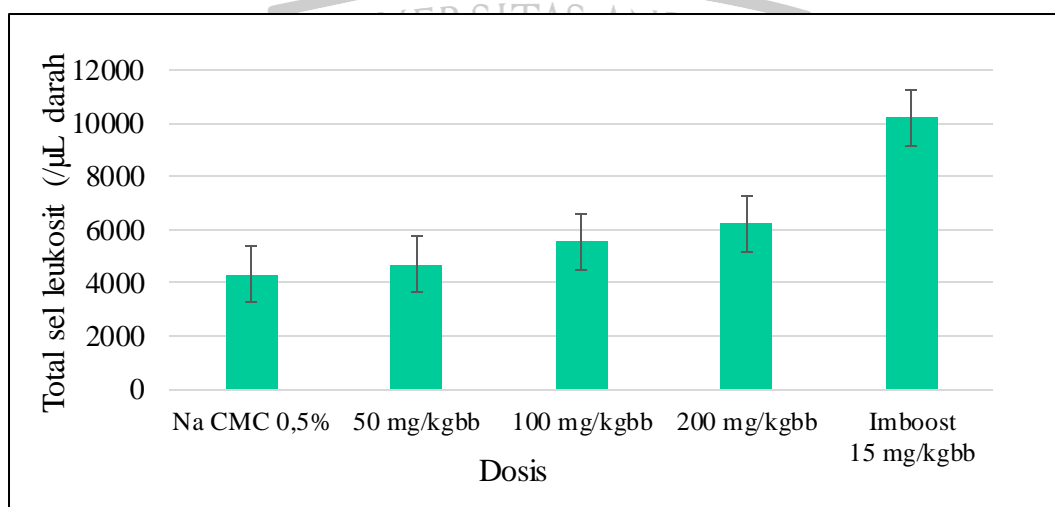
Gambar 3. Diagram indeks fagositosis pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) pada dosis 50, 100, dan 200 mg/kgbb.

Pada perhitungan jumlah sel leukosit total, darah mencit dihisap menggunakan pipet leukosit dan ditambahkan dengan larutan turk. Larutan turk digunakan karena berfungsi sebagai pengencer dan dapat melisiskan sel-sel darah selain sel leukosit sehingga mempermudah proses perhitungan. Setelah itu diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 400x. Sel leukosit mencit putih jantan yang diamati menggunakan hemasitometer di bawah mikroskop yang dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Sel leukosit mencit putih jantan yang diamati dengan hemasitometer pada perbesaran 400x

Berdasarkan hasil perhitungan dan pengamatan ditemukan peningkatan jumlah sel leukosit total dari kelima kelompok yang diberikan perlakuan berbeda. Peningkatan sel leukosit tertinggi terlihat pada kelompok kontrol positif yaitu kelompok yang diberikan imunostimulan (Imboost) dengan nilai rata-rata 10220/ μ L. Pada pemberian sediaan uji ekstrak etanol daun kersen, peningkatan sel leukosit tertinggi terdapat pada dosis 200 mg/kgbb yaitu sebesar 6220/ μ L yang dapat dilihat pada gambar 5. Hubungan antara 5 kelompok perlakuan mencit putih jantan dengan jumlah total sel leukosit dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Diagram total sel leukosit terhadap dosis setelah pemberian sediaan pada mencit putih jantan daun kersen (*Muntingia calabura* L.) pada dosis 50, 100, dan 200 mg/kgbb

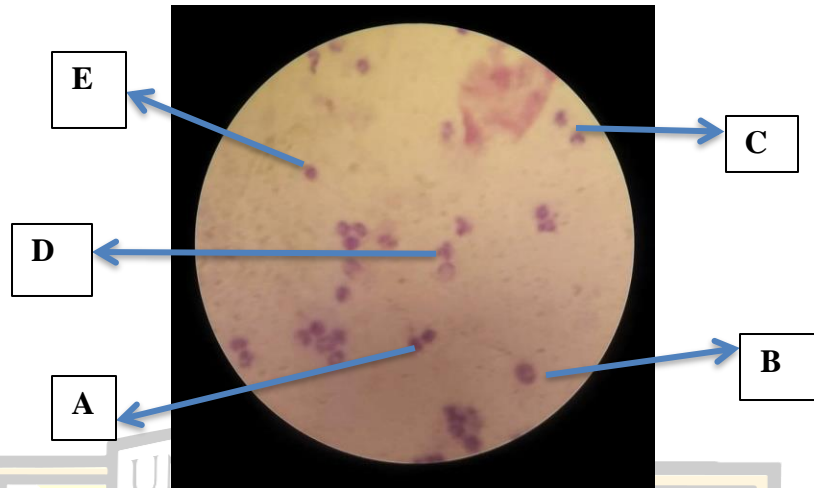
Senyawa yang terkandung dalam ekstrak dapat meningkatkan jumlah sel leukosit total. Peningkatan ini akibat produksi IL-1 yang lebih tinggi, yang berikatan dengan sel myeloblast yang kemudian berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel neutrofil, eosinofil, dan basofil sel. Sel limfosit berdiferensiasi membentuk sel B, sel T, dan sel Natural Killer (sel NK). Sel NK merupakan subset limfosit asal sumsum tulang yang berfungsi dalam imunitas non spesifik dalam mencegah terjadinya infeksi (19).

Berdasarkan hasil penelitian uji analisis menunjukkan adanya pengaruh yang sangat nyata dari kelompok dosis ekstrak etanol daun kersen terhadap jumlah sel leukosit total pada mencit putih jantan ($p < 0,05$). Pada tabel hasil uji lanjut Duncan menunjukkan jumlah sel leukosit total mencit yang diberikan ekstrak etanol daun kersen dosis 50 mg/kgbb, dosis 100 mg/kgbb, dosis 200 mg/kgbb ,

dan kelompok yang diberikan imunostimulan (Imboost) terlihat lebih nyata dibandingkan dengan jumlah sel leukosit total mencit yang diberikan sediaan Na CMC 0,5% (kontrol negatif) . Rata-rata hasil pengamatan jumlah sel leukosit total seluruh kelompok kontrol negatif, kelompok dosis 50, 100, 200 mg/kgbb, dan kelompok imboost secara berurutan adalah 4310 ± 119 , 4690 ± 315 , 5560 ± 216 , 6220 ± 152 , 10220 ± 375 . Hal tersebut berarti hasil dari penelitian menunjukkan bahwa jumlah sel leukosit total mencit putih jantan dapat meningkat seiring dengan bertambahnya besar dosis ekstrak etanol daun kersen yang diberikan.

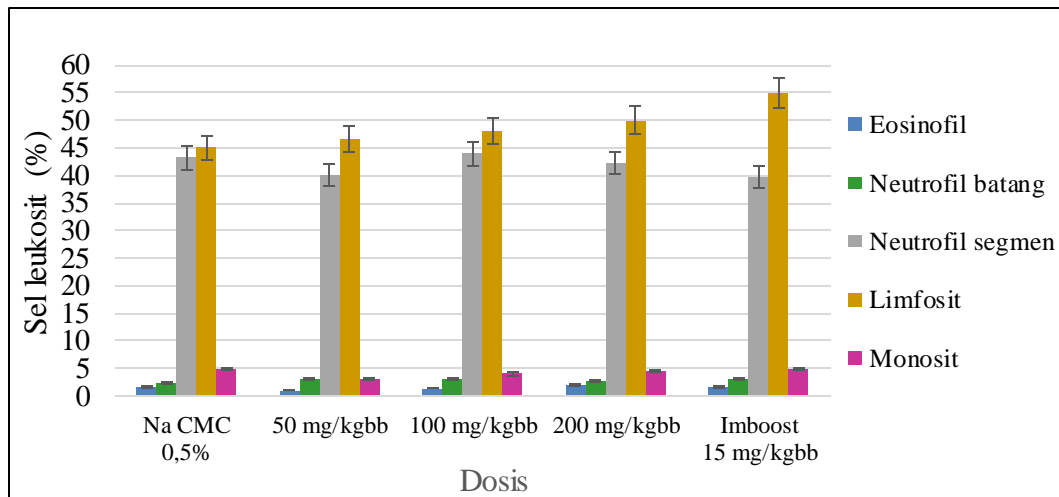
Menurut penelitian yang dilakukan sebelumnya, senyawa kimia tertentu yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan dapat merangsang produksi leukosit dan berfungsi sebagai peningkat kekebalan tubuh. Menurut penelitian oleh Aldi (2016) melaporkan bahwa ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang diberikan terhadap mencit putih jantan dapat memberikan efek imunostimulan karena dapat meningkatkan jumlah sel leukosit total, meningkatkan jumlah persentase sel neutrofil segmen, sel neutrofil batang, sel limfosit, sel monosit, dan sel eosinofil (32). Aldi (2014) juga menyatakan bahwa ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.) memiliki efek dengan metoda penghitungan jumlah komponen sel leukosit darah, menunjukkan perbedaan secara nyata pada sel limfosit, eosinofil, dan neutrofil segmen pada semua kelompok subfraksi ($P < 0,05$) (31).

Perhitungan persentase jenis sel leukosit dengan metode hapusan darah. Dimana pada metode ini digunakan giemsa sebagai pewarna. Giemsa hanya dapat memperlihatkan eosinofil, neutrofil batang, neutrofil segmen, limfosit, dan monosit. Sedangkan sel basofil tidak dapat terlihat dikarenakan sel basofil larut dalam pewarna Giemsa (32). Pemberian suspensi ekstrak etanol daun kersen dengan peningkatan dosis menyebabkan terjadinya perubahan persentase jenis sel leukosit. Dari hasil perhitungan, persentase sel yang terbanyak yaitu sel neutrofil dan yang paling sedikit yaitu sel eosinofil. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa sel yang dominan dalam sel leukosit yaitu sel neutrofil 40-60% dan yang paling sedikit yaitu sel eosinofil 3-5%.



Gambar 6. Sel leukosit mencit putih jantan yang diamati mikroskop dengan perbesaran 40x. Keterangan: A=Eusinofill segmen, B=Monosit, C=Neutrofil Batang, D=Neutrofil Segmen, E=Limfosit

Dari hasil pengamatan terjadinya penurunan sel neutrofil segmen pada dosis 50 mg/kgbb, hal tersebut dapat dikarenakan adanya proses fagositosis, sel yang lebih berperan yaitu sel makrofag atau karena terjadi peningkatan faktor kemotaksis sehingga terjadi peningkatan kemampuan fagositosis. Sedangkan pada kelompok dosis 100 dan 200 mg/kgbb sel neutrofil segmen kembali mengalami peningkatan, kenaikan jumlah sel neutrofil pada dosis 100 dan 200 mg/kgbb ini dapat terjadi karena ekstrak yang diberikan berkerja sebagai imunostimulan sehingga dapat merangsang pembentukan kekebalan tubuh nonspesifik. Begitu juga dengan sel leukosit yang lainnya, terjadinya peningkatan dan penurunan sel leukosit dapat terjadi akibat faktor yang sama. Hasil perhitungan sel leukosit dapat dilihat pada gambar 7. Hubungan antara 5 kelompok perlakuan mencit putih jantan dengan sel leukosit dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 7. Diagram persentase sel leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian daun kersen (*Muntingia calabura* L.) pada dosis 50, 100, dan 200 mg/kgbb.

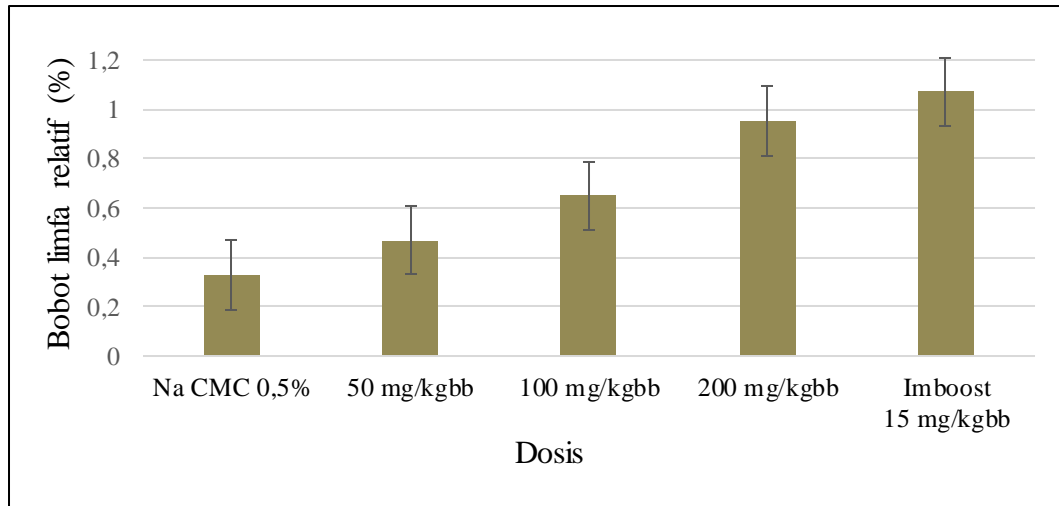
Pada hasil uji ANOVA satu arah menyatakan bahwa tidak ditemukan perbedaan nyata dari ekstrak etanol daun kersen terhadap persentase sel neutrofil batang, sel monosit, dan sel eosinofil ($p > 0,05$).

Pada hasil uji ANOVA satu arah menyatakan bahwa terdapat perbedaan nyata dari ekstrak etanol daun kersen terhadap persentase sel neutrofil segmen dan sel limfosit ($p < 0,05$). Pada tabel hasil uji lanjut Duncan yang dilakukan, didapatkan persentase sel neutrofil segmen mencit yang telah diberikan ekstrak etanol daun kersen dosis 50 mg/kgbb tidak memiliki perbedaan nyata dibandingkan dengan persentase sel neutrofil segmen mencit yang diberikan Na CMC 0,5% (kontrol negatif). Pada kelompok mencit yang diberikan ekstrak etanol daun kersen dosis 100, 200 mg/kgbb dan Imboost memiliki perbedaan nyata dibandingkan dengan dosis 50 mg/kgbb dan Na CMC 0,5%. Pada kelompok dosis 200 mg/kgbb memiliki penurunan neutrofil segmen nyata dari kelompok lain, tetapi tidak lebih rendah dibandingkan dengan kelompok Imboost 15 mg/kgbb. Rata-rata hasil pengamatan persentase sel neutrofil segmen kelompok kontrol negatif, kelompok dosis 50, 100, 200 mg/kgbb, dan kelompok imboost berurutan adalah $42,80 \pm 1,31^b$, $42,60 \pm 1,82^b$, $39,80 \pm 1,30^a$; $42,20 \pm 2,39^b$ dan $39,20 \pm 1,64^a$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase sel neutrofil segmen mencit putih jantan menurun seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak etanol daun kersen. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa sel neutrofil

segmen mengalami penurunan. Penurunan diduga disebabkan pada proses fagositosis yang lebih berperan adalah makrofag atau karena meningkatnya faktor kemotaksis sehingga terjadi peningkatan fagositosis (39).

Pada tabel hasil uji lanjut Duncan menunjukkan persentase sel limfosit menciit yang diberikan ekstrak etanol daun kersen dosis 50 mg/kgbb tidak memiliki perbedaan nyata dibandingkan dengan persentase sel limfosit menciit yang diberikan Na CMC 0,5% (kontrol negatif). Pada kelompok menciit yang diberikan ekstrak etanol daun kersen dosis 100 mg/kgbb memiliki perbedaan nyata (peningkatan lebih besar) dibandingkan dengan kelompok dosis 50 mg/kgbb dan memiliki perbedaan nyata (peningkatan lebih kecil) dibandingkan dengan kelompok dosis 200 mg/kgbb dan Imboost. Pada kelompok dosis 200 mg/kgbb memiliki perbedaan nyata (peningkatan lebih besar) dibandingkan dengan kelompok 100 mg/kgbb dan memiliki perbedaan nyata (peningkatan lebih kecil) dibandingkan dengan kelompok imboost. Rata-rata hasil pengamatan persentase sel limfosit kelompok kontrol negatif, kelompok dosis 100, 300, 500 mg/kgbb, dan kelompok imboost berurutan adalah $45,00 \pm 1,22^a$; $46,60 \pm 1,52^{ab}$; $48,00 \pm 2,45^{bc}$; $50,00 \pm 1,58^c$ dan $54,80 \pm 0,84^d$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase sel limfosit menciit putih jantan meningkat seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak etanol daun kersen.

Pada pengujian respon imun spesifik dilakukan melalui penimbangan bobot limpa. Limpa merupakan tempat terjadinya pembentukan sel limfosit yang masuk ke dalam darah. Limpa merupakan organ yang berfungsi membentuk antibodi, dimana limpa akan bereaksi dengan antigen yang masuk dan terbawa oleh darah. (29). Perhitungan persentase bobot relatif limpa menunjukkan terjadi peningkatan pada semua kelompok jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang diberikan Na CMC 0,5%. Peningkatan optimal didapatkan pada kelompok dosis 200 mg/kgbb dengan rata-rata hasil yang diperoleh yaitu 0,95, tetapi masih lebih rendah apabila dibandingkan dengan kelompok pembanding yaitu kelompok uji yang diberikam imboost® cair 15 mg/kgbb yang memiliki rata-rata yaitu 1,07.

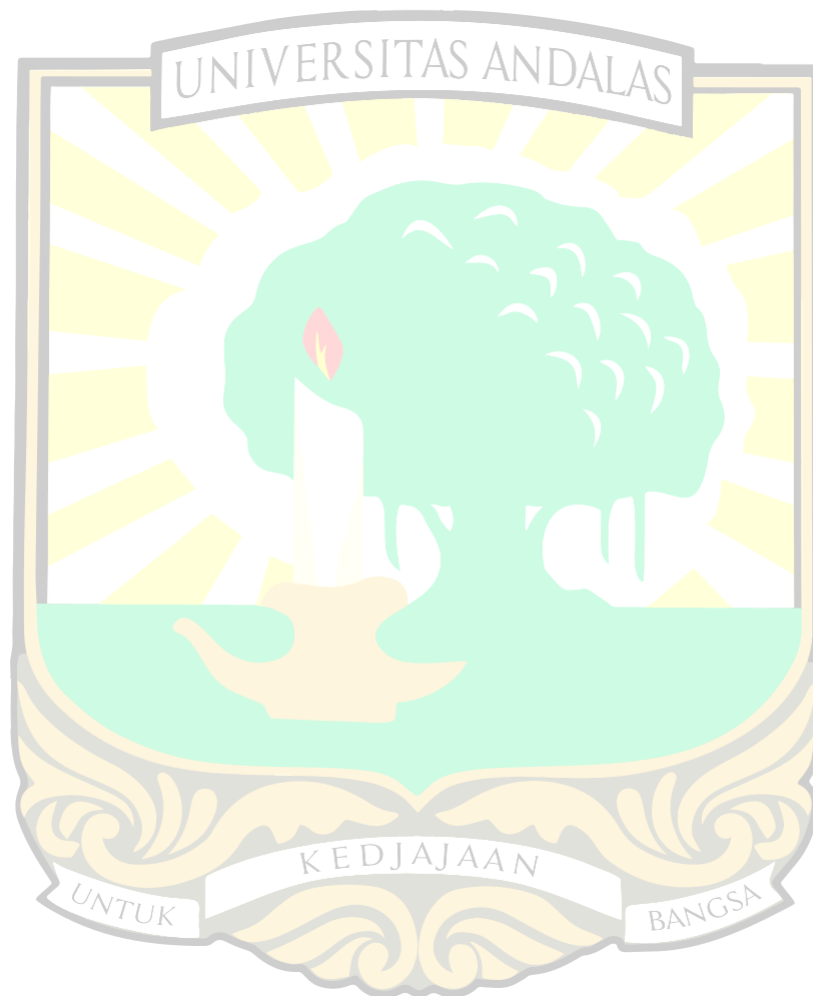


Gambar 8. Diagram bobot limpa relatif terhadap dosis setelah pemberian sediaan pada mencit putih jantan daun kersen (*Muntingia calabura* L.) pada dosis 50, 100, dan 200 mg/kgbb.

Hasil uji statistik (ANOVA) satu arah menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$) bobot limpa relatif pada masing-masing kelompok (Lampiran 2, Tabel 41, Halaman 86). Oleh karena itu diteruskan dengan melakukan uji Duncan. Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan pada kelompok mencit yang diberikan ekstrak etanol daun kersen dosis 50, 100, 200 mg/kgbb dan Imboost memiliki perbedaan nyata dibandingkan dengan dosis kontrol negatif yang diberikan Na CMC 0,5%. Pada kelompok dosis 200 mg/kgbb memiliki peningkatan bobot limfa yang nyata dari kelompok lain, tetapi tidak lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok Imboost 15 mg/kgbb. Hal tersebut dapat diartikan semakin meningkatnya aktivitas organ limpa dalam pembentukan antibodi akibat pemberian ekstrak etanol daun kersen. Peningkatan bobot limpa pada penelitian ini juga diikuti dengan kenaikan sel limfosit. Karena pada organ limpa terjadi diferensiasi dan proliferasi limfosit sehingga terjadi pembesaran pada limpa (40)

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kersen dapat meningkatkan aktivitas fagositosis, jumlah sel leukosit dan persentase sel leukosit mencit putih jantan. Hal tersebut menandakan bahwa ekstrak etanol daun tumbuhan kersen (*Muntingia calabura*) memiliki efek sebagai imunomodulator, hal itu sesuai dengan senyawa kimia yang terkandung dalam daun kersen yaitu flavonoid yang diduga berperan dalam imunomodulator.

Menurut penelitian yang telah ada, kandungan flavonoid berpotensi sebagai antioksidan. Kemampuan daun kersen dalam mengatasi nyeri dapat dikarenakan adanya kandungan flavonoid. Mekanisme kerja flavonoid adalah menghambat kerja enzim siklooksigenase, dengan demikian akan mengurangi produksi prostaglandin oleh asam arakidonat sehingga mengurangi rasa nyeri, selain itu flavonoid juga menghambat degranulasi neutrofil sehingga akan menghambat pengeluaran sitokin, radikal bebas, serta enzim yang berperan dalam peradangan (34).



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

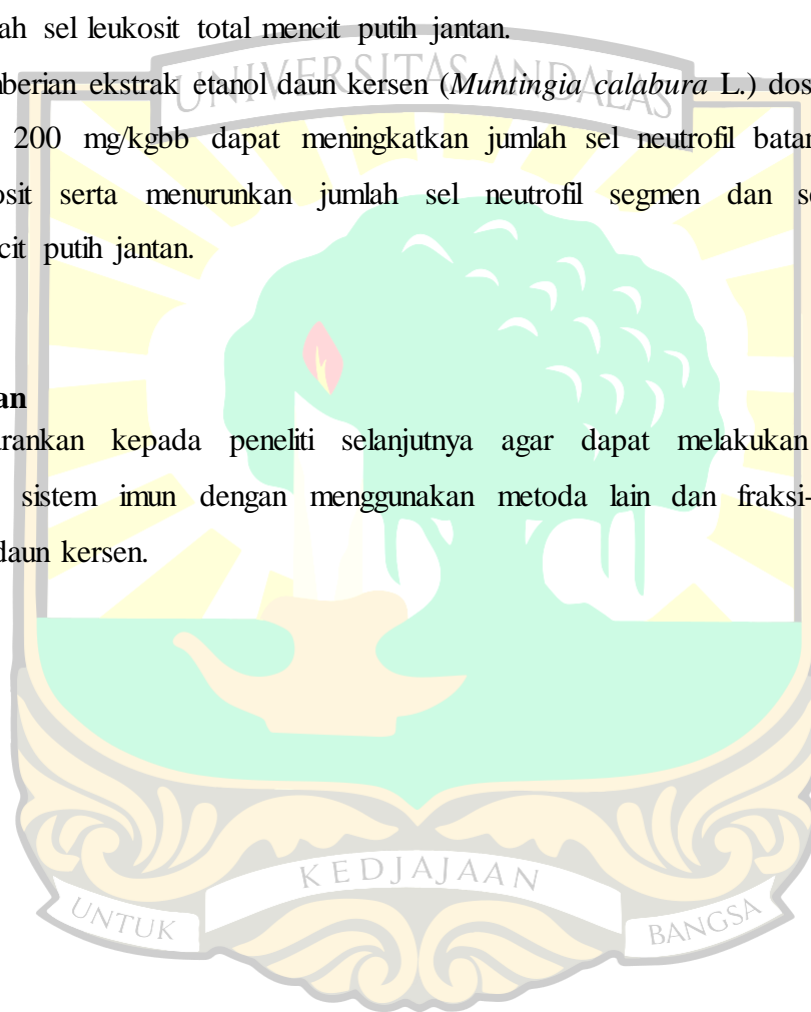
5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dosis 50, 100, dan 200 mg/kgbb dapat bersifat imunostimulan dan dapat meningkatkan jumlah sel leukosit total mencit putih jantan.
2. Pemberian ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dosis 50, 100, dan 200 mg/kgbb dapat meningkatkan jumlah sel neutrofil batang dan sel limfosit serta menurunkan jumlah sel neutrofil segmen dan sel monosit mencit putih jantan.

5.2 Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya agar dapat melakukan pengujian terhadap sistem imun dengan menggunakan metoda lain dan fraksi-fraksi dari ekstrak daun kersen.



DAFTAR PUSTAKA

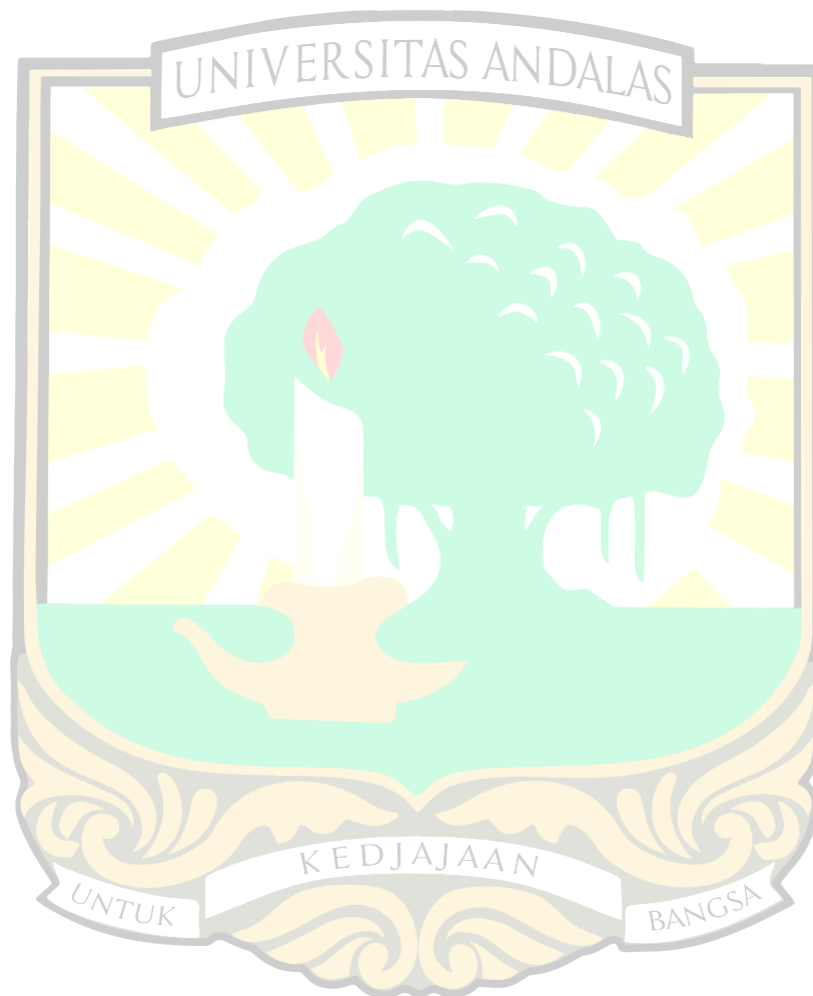
1. Baratawidjaja KG, R. I. *Imunologi Dasar*. VIII. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2009.
2. Kresno SB. *Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi VI. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2010.
3. Boothapandi M, Ramanibai R. Immunomodulatory effect of natural flavonoid chrysin (5,7-dihydroxy flavone) on LPS stimulated RAW 264.7 macrophages via inhibition of NF- κ B activation. 2019;84(April):186–95.
4. Subowo. *Imunologi*. Jakarta: CV. Sagung Seto; 2009.
5. Jisha N, Vysakh A, Vijeesh V, Latha MS. Anti-inflammatory efficacy of methanolic extract of *Muntingia calabura* L. leaves in Carrageenan induced paw edema model. *Pathophysiology* [Internet]. 2019;
6. Hadi K, Permatasari I. Uji Fitokimia Kersen (*Muntingia calabura* L.) Dan Pemanfaatannya Sebagai Alternatif Penyembuhan Luka. 2019;22–31.
7. Ghaisas MM, Shaikh S., Deshpande AD. Evaluation of the immunomodulatory activity of ethanolic extract of the stem bark of *Bauhinia variegata* Linn. 2009;(March):70–4.
8. Ilkafah. Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Sebagai Alternatif Terapi Pada Penderita Gout Atritis. 2018;1(1).
9. Zahara M, Suryadi. Kajian Morfologi dan Review Fitokimia Tumbuhan Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Pedagog J Ilm Pendidik dan Pembelajaran Fak Tarb Univ Muhammadiyah Aceh* Vol. 2018;(November).
10. Vijayanand S, Thomas AS. Screening of *Michelia champacca* and *Muntingia calabura* extracts for potential Bioactives. 2016;7(6):266–73.

11. Bramasto Y, Syamsuwida D, Danu, Nurhasybi, Mokodompit S, Zanzibar M, et al. Trees of the city. ketiga. Sudrajat DJ, editor. Bogor: Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan; 2015.
12. Pamungkas JD, Anam K, Kusri D. Penentuan Total Kadar Fenol dari Daun Kersen Segar , Kering dan. 2016;19(1):15–20.
13. Tukayo BLA, Titihalawa DR, Farmasi J, Kemenkes P, Farmasi J, Kemenkes P. Rebusan Daun Kersen (*Muntingia calabura* L .) Menurunkan Glukosa Darah Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). 2018;10:9–15.
14. Patrick W, Buhian C, Rubio RO, Lim D, Jr V, Martin-puzon JJ. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Asian Pac J Trop Biomed [Internet]. 2016;6(8)
15. Singh R, Iye S, Prasad S, Deshmukh N, Gupta U, Zanje A, et al. Phytochemical Analysis of *Muntingia calabura* Extracts Possessing Anti-Microbial and Anti-Fouling Activities. 2017;9(6):826–32.
16. Ragasa CY, Tan MCS, Chiong ID. Chemical constituents of *Muntingia calabura* L . 2015;7(5):136–41.
17. Laswati DT, Retno N, Sundari I, Anggraini O. Pemanfaatan Kersen (*Muntingia calabura* L .) Sebagai Alternatif Produk Olahan Pangan: Sifat Kimia dan Sensoris. 2011;4:127–34.
18. Haeria, Dhuha NS, Hasbi MI. Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L) Dengan Parameter Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Pada Mencit (*Mus musculus*) Jantan. J Farm Galen Vol 4. 4(1).
19. Marlina N, Widhyasih RM. Imunoserologi. pertama. Marlina N, Widhyasih RM, editors. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2018.
20. Sukendra DM. Efek Olahraga Ringan Pada Fungsi Imunitas Terhadap Mikroba Patogen: Infeksi Virus Dengue. Efek Olahraga Ringan Pada Fungsi Imunitas Terhadap Mikroba Infeksi Virus Dengue. 2015;5(2)

21. Levani Y. Perkembangan Sel Limfosit B dan Penandanya Untuk Flowcytometry. Society. 2018;volume 1:50–7.
22. Suardana DDIB. Diktat imunologi dasar sistem imun. Denpasar: Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana; 2017. 1–36 p.
23. Georgiou F, Thamwattana N. Modelling phagocytosis based on cell–cell adhesion and prey–predator relationship. Math Comput Simul [Internet]. 2020;171(xxxx):52–64.
24. Barger SR, Reilly NS, Shutova MS, Li Q, Maiuri P, Heddleston JM, et al. Membrane-cytoskeletal crosstalk mediated by myosin-I regulates adhesion turnover during phagocytosis. 2019
25. Zabriskie JB. Essential Clinical Immunology. Zabriskie JB, editor. New York: Cambridge University Press; 2009.
26. Serang Y, Farm M, Farm FIS. Uji Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Buah Petai (*Parkia speciosa* Hassk .) terhadap Titer Immunoglobulin (IgG) pada Mencit yang Diinduksi dengan SDMD. 2019;8(1):76–81.
27. Departemen Kesehatan RI. Farmakope Herbal Indonesia. I. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2008.
28. Departemen Kesehatan RI. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2000.
29. Aldi Y, Oktavia S, Yenni S. Uji Efek Imunomodulator Dari Ekstrak Daun Manggis (*Garcinia mangostana* L .) Dengan Metode Carbon Clearance Dan Menghitung Jumlah Sel Leukosit Pada Mencit Putih Jantan. J Farm Higea. 2016;8(1).
30. Harborne J. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Bandung: Penerbit ITB; 1987.

31. Aldi Y, Ogiana N, Handayani D. Uji Imunomodulator Beberapa Subfraksi Ekstrak Etil Asetat Meniran (*Phyllanthus niruri* [L]) Pada Mencit Putih Jantan Dengan Metoda Carbon Clearance. *B-Dent, J Kedokt Gigi Univ Baiturrahmah*. 2018;1(1):70–82.
32. Aldi Y, Dewi ON, Uthia R. Uji Imunomodulator Dan Jumlah Sel Leukosit Dari Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Pada Mencit Putih Jantan. *Sci J Farm dan Kesehatan*. 2016;6(2):139.
33. RI DK. *Farmakope Herbal Indonesia*. I. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2008.
34. Sentat T, Pangestu S. Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus*. 2016;2(2):147–53.
35. Gandjar IG, Rohman A. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2007.
36. Zilhadia, Wiraswati Y. Uji Efek Imunomodulator Katekin Gambir (*Uncaria gambier* Roxb.) Menggunakan Parameter Bersihan Karbon Secara Invitro. *J Bahan Alam Indones* 8(3), pp 181–186. 2012;
37. Dahlia, Santosa PE, Siswanto, Hartono M. Pengaruh Pemberian Imunomodulator *Echinacea Purpurea* (*Radix*) Terhadap Titer Antibodi Avian Influenza (*Ai*) Dan Newcastle Disease (*Nd*) Pada Broiler Betina The Effect Of *Echinacea Purpurea* (*Radix*) Immunomulatory on Avian Influenza (*AI*) and Newcastl. 2019;3(3):1–7.
38. Peluso I, Miglio C, Morabito G, Ioannone F SM. Flavonoids and Immune Function in Human: A Systematic Review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2015;55(3):383–95. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2015;

39. Sukmayadi AE, Sumiwi SA, Barliana MI, Aryanti AD, Farmasi F, Padjadjaran U, et al. Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (Sonchus The Immunomodulatory Activity of Ethanol Extract of Tempuyung Leaves (Sonchus arvensis Linn .). 2014;1.
40. Aldi Y, Suhatri. Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (Nigella Sativa Linn.) Terhadap Titer Antibodi Dan Jumlah Sel Leukosit Pada Mencit Putih Jantan. 2011;35–41.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Penelitian

Tabel 1. Pemeriksaan organoleptis ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.)

Pemeriksaan organoleptis	Hasil
Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Cokelat kehitaman
Bau	Beraroma khas
Rasa	Pahit

Tabel 2. Hasil KLT ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.)

Bahan	Eluen	Jarak tempuh (cm)	Rf
Kuersetin	n-heksan:etil asetat (6:4)	1,40	0,35
Ekstrak etanol daun kersen	n-heksan:etil asetat (6:4)	1,40	0,35

Tabel 3. Hasil penentuan kadar abu total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.)

Pengulangan	W0 (g)	W1 (g)	W2 (g)	Hasil (%)
1	9,09	11,09	9,11	1,00
2	14,23	16,23	14,24	0,50
3	23,06	25,06	23,07	0,50
Rata-rata				0,66

Tabel 4. Hasil penentuan susut pengeringan ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.)

Pengulangan	W0 (g)	W1 (g)	W2 (g)	Hasil (%)
1	9,09	10,09	9,83	26,00
2	14,23	15,23	14,94	29,00
3	23,06	24,06	23,79	27,00
Rata-rata				27,33

Tabel 5. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.)

No.	Skrining	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Terpenoid	+
4	Fenolik	+
5	Saponin	+

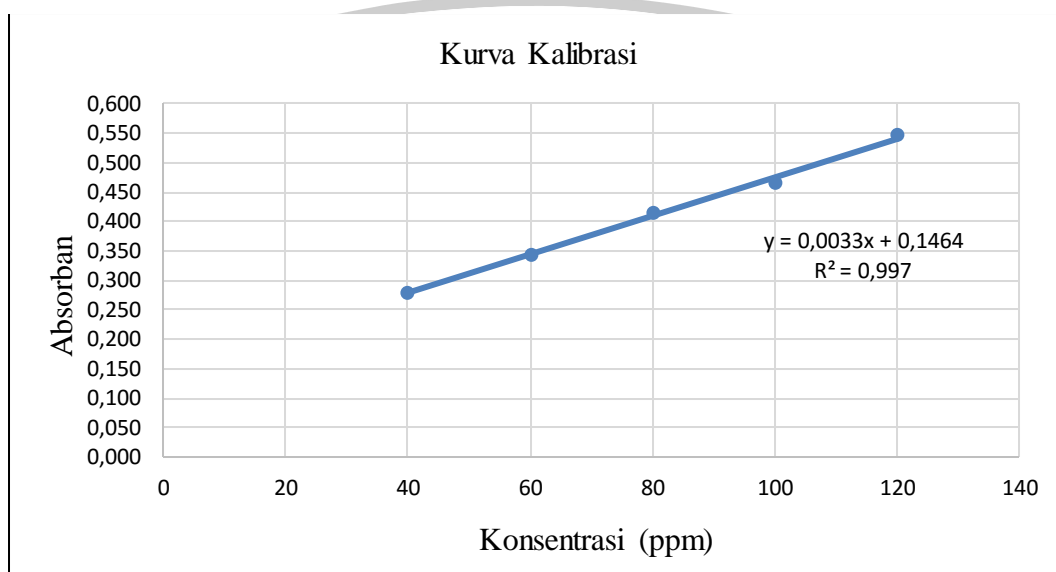
Keterangan : (+) mengandung senyawa uji, (-) tidak mengandung senyawa uji

Tabel 6. Hasil pengukuran berat badan mencit selama aklimatisasi

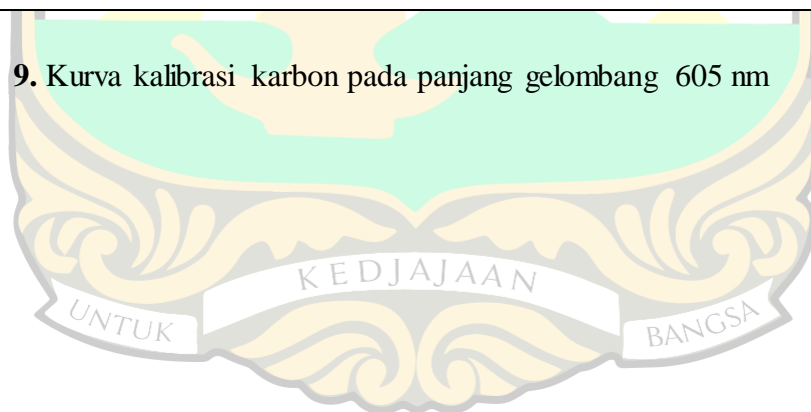
Hewan	Berat badan mencit (g)			
	Sebelum	Sesudah	Selisih	% Selisih
1	24,20	25,30	1,10	4,54%
2	24,70	26,00	1,30	5,26%
3	26,20	27,80	1,60	6,10%
4	24,60	25,70	1,10	4,47%
5	24,70	25,90	1,20	4,85%
6	24,20	26,00	1,80	7,44%
7	23,70	25,20	1,50	6,33%
8	24,20	25,80	1,60	6,61%
9	26,70	28,30	1,60	6,00%
10	23,30	25,00	1,70	7,30%
11	23,70	25,30	1,60	6,75%
12	20,80	21,90	1,10	5,29%
13	24,30	25,80	1,50	6,17%
14	23,80	25,00	1,20	5,04%
15	23,20	25,20	1,80	7,76%
16	24,10	24,80	0,70	2,90%
17	23,20	25,00	1,80	7,75%
18	24,70	26,80	2,10	8,50%
19	25,60	27,20	1,60	6,25%
20	23,70	25,20	1,50	6,33%
21	25,20	27,00	1,80	7,14%
22	26,20	28,30	2,10	8,01%
23	25,70	28,10	2,40	9,34%
24	23,10	25,30	2,20	9,52%
25	25,20	26,10	0,90	3,57%

Tabel 7. Data konsnetrasi dan absorban karbon pada panjang gelombang 605 nm

Konsentrasi (ppm)	Absorban
40	0,280
60	0,343
80	0,413
100	0,466
120	0,548



Gambar 9. Kurva kalibrasi karbon pada panjang gelombang 605 nm



Tabel 8. Nilai absorban pada panjang gelombang maksimal 605 nm pada menit ke-3, 6, 9, 12, dan 15

Dosis	Waktu (Menit)	Nilai Absorban					Rata-rata ± SD
		1	2	3	4	5	
Na CMC 5%	3	0,631	0,590	0,590	0,554	0,638	0,601 ± 0,034
	6	0,573	0,547	0,544	0,537	0,622	0,565 ± 0,035
	9	0,504	0,502	0,520	0,548	0,567	0,528 ± 0,028
	12	0,505	0,486	0,486	0,509	0,547	0,507 ± 0,025
	15	0,499	0,477	0,476	0,491	0,504	0,489 ± 0,013
Dosis 50 mg/kgbb	3	0,601	0,616	0,594	0,585	0,593	0,598 ± 0,012
	6	0,561	0,608	0,562	0,524	0,533	0,558 ± 0,033
	9	0,513	0,525	0,521	0,500	0,506	0,513 ± 0,010
	12	0,477	0,478	0,478	0,479	0,434	0,469 ± 0,020
	15	0,412	0,422	0,404	0,396	0,369	0,401 ± 0,020
Dosis 100 mg/kgbb	3	0,507	0,515	0,490	0,490	0,500	0,500 ± 0,011
	6	0,468	0,473	0,465	0,444	0,444	0,459 ± 0,014
	9	0,377	0,376	0,374	0,375	0,378	0,376 ± 0,002
	12	0,374	0,367	0,332	0,327	0,352	0,350 ± 0,021
	15	0,318	0,315	0,300	0,292	0,319	0,309 ± 0,012
Dosis 200 mg/kgbb	3	0,445	0,427	0,489	0,480	0,445	0,457 ± 0,026
	6	0,360	0,361	0,368	0,350	0,423	0,372 ± 0,029
	9	0,334	0,335	0,339	0,328	0,365	0,340 ± 0,014
	12	0,283	0,284	0,289	0,283	0,254	0,279 ± 0,014
	15	0,256	0,258	0,262	0,258	0,246	0,256 ± 0,006
Imboost 15 mg/kgbb	3	0,329	0,300	0,324	0,315	0,294	0,312 ± 0,015
	6	0,312	0,285	0,297	0,294	0,287	0,295 ± 0,011
	9	0,282	0,249	0,287	0,285	0,245	0,270 ± 0,021
	12	0,258	0,238	0,245	0,251	0,215	0,241 ± 0,017
	15	0,248	0,229	0,218	0,219	0,210	0,225 ± 0,015

Tabel 9. Hasil perhitungan konstanta fagositosis setelah pemberian sediaan daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

Waktu (menit)	Na CMC 0,5%	Suspensi ekstrak etanol daun kersen(<i>Muntingia calabura</i> L.)			Imboost 15 mg/kgbb
		50 mg/kgbb	100 mg/kgbb	200 mg/kgbb	
3	0,074	0,075	0,100	0,113	0,168
6	0,044	0,043	0,056	0,071	0,088
9	0,035	0,032	0,047	0,052	0,063
12	0,025	0,027	0,038	0,046	0,051
15	0,021	0,026	0,034	0,039	0,043
Rata-rata ± SD	0,039 ±0,021	0,041 ±0,020	0,055 ±0,027	0,065 ±0,030	0,083 ±0,051

Tabel 10. Hasil perhitungan indeks fagositosis pada mencit putih jantan setelah pemberian sediaan daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

Waktu (menit)	Na CMC 0,5%	Suspensi ekstrak etanol daun kersen(<i>Muntingia calabura</i> L.)			Imboost 15 mg/kgbb
		50 mg/kgbb	100 mg/kgbb	200 mg/kgbb	
3	1,000	1,000	1,301	1,556	2,005
6	1,000	1,009	1,319	1,647	2,029
9	1,000	1,045	1,536	1,703	2,052
12	1,000	1,132	1,540	1,906	2,065
15	1,000	1,293	1,650	1,914	2,118
Rata-rata ± SD	1,000 ± 0,00	1,095 ± 0,12	1,469 ± 0,15	1,745 ± 0,16	2,054 ± 0,04

Tabel 11. Hasil perhitungan sel leukosit total pada mencit putih jantan setelah pemberian sediaan daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

Mencit	Na CMC 0,5%	Suspensi ekstrak etanol daun kersen(<i>Muntingia calabura</i> L.)			Imboost 15 mg/kgbb
		50 mg/kgbb	100 mg/kgbb	200 mg/kgbb	
1	4450	4350	5600	6200	10700
2	4150	4700	5250	6050	10500
3	4400	4800	5800	6350	9800
4	4300	4450	5450	6400	9950
5	4250	5150	5700	6100	10150
Rata-rata ± SD	4310 ± 119	4690 ± 315	5560 ± 216	6220 ± 152	10220 ± 375

Tabel 12. Hasil deskriptif persentase jenis sel leukosit darah pada mencit putih jantan setelah pemberian sediaan daun kersen (*Muntingia calabura* L.)

Kelompok	Mencit	Persentase sel leukosit (%)				
		Eosinofil	Neutrofil batang	Neutrofil segmen	Limfosit	Monosit
Na CMC 0,5%	1	1	2	44	43	5
	2	2	4	41	46	6
	3	2	2	43	45	4
	4	1	3	44	46	5
	5	2	1	42	45	5
	Rata-rata	1,6	2,4	42,8	45,0	5,0
	± SD	0,55	1,14	1,30	1,22	0,71
Dosis 50 mg/kgbb	1	2	2	41	47	4
	2	1	4	42	46	2
	3	1	3	41	49	5
	4	1	4	45	46	4
	5	0	2	44	45	1
	Rata-rata	1,0	3,0	42,6	46,6	3,2
	± SD	0,71	1	1,82	1,52	1,64
Dosis 100 mg/kgbb	1	1	3	39	45	5
	2	2	4	41	50	6
	3	2	2	38	47	4
	4	2	4	41	47	2
	5	0	3	40	51	3
	Rata-rata	1,4	3,2	39,8	48	4
	± SD	0,89	0,84	1,3	2,45	1,58
Dosis 200 mg/kgbb	1	1	3	44	49	4
	2	3	4	45	50	4
	3	2	3	42	51	3
	4	3	2	39	48	5
	5	1	2	41	52	6
	Rata-rata	2	2,8	42,2	50	4,4
	± SD	1,00	0,84	2,39	1,58	1,14
Imboost 15 mg/kgbb	1	1	3	40	55	6
	2	1	4	37	54	3
	3	3	2	38	55	5
	4	1	3	40	56	5
	5	2	3	41	54	6
	Rata-rata	1,6	3	39,2	54,8	5
	± SD	0,89	0,71	1,64	0,84	1,22

Tabel 13. Hasil perhitungan bobot limfa relatif pada mencit putih jantan setelah pemberian sediaan daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

Dosis	Mencit	Bobot Badan	Bobot Limfa	Bobot Limfa relatif (%)
Na CMC 5%	1	25,80	0,081	0,31
	2	27,00	0,095	0,35
	3	26,50	0,093	0,35
	4	25,80	0,084	0,33
	5	27,50	0,091	0,33
	Rata-rata ± SD			
Dosis 50 mg/kgbb	1	27,20	0,128	0,47
	2	25,50	0,112	0,44
	3	25,20	0,103	0,41
	4	28,30	0,145	0,51
	5	27,60	0,137	0,50
	Rata-rata ± SD			
Dosis 100 mg/kgbb	1	25,40	0,162	0,64
	2	24,80	0,144	0,58
	3	28,20	0,193	0,68
	4	26,80	0,179	0,67
	5	27,40	0,180	0,66
	Rata-rata ± SD			
Dosis 200 mg/kgbb	1	28,70	0,281	0,98
	2	23,80	0,216	0,91
	3	25,50	0,235	0,92
	4	28,00	0,272	0,97
	5	26,90	0,259	0,96
	Rata-rata ± SD			
Imboost 15mg/kgbb	1	25,50	0,268	1,05
	2	27,20	0,295	1,08
	3	27,80	0,302	1,09
	4	28,00	0,313	1,12
	5	26,60	0,275	1,03
	Rata-rata ± SD			

Lampiran 2. Data Hasil Perhitungan Statistik Menggunakan Aplikasi SPSS

24

Tabel 14. Hasil uji normalitas pengaruh ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap indeks fagositosis mencit putih jantan

Standardized Residual for Indeks fagositosis	Dosis	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	50mg/kgbb	,128	25	,200*	,900	25	,019
	100mg/kgbb	,104	25	,200*	,968	25	,605
	200mg/kgbb	,118	25	,200*	,987	25	,982
	Imboost 15 mg/kgbb	,145	25	,188	,948	25	,223

Tabel 15. Hasil uji ANOVA dua arah pengaruh dosis dan waktu ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap indeks fagositosis mencit putih jantan

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	20,746 ^a	24	,864	67,045	,000
Intercept	271,157	1	271,157	21031,605	,000
Dosis	19,439	4	4,860	376,926	,000
Waktu	,834	4	,208	16,171	,000
Dosis * Waktu	,473	16	,030	2,293	,007
Error	1,289	100	,013		
Total	293,192	125			
Corrected Total	22,035	124			

a. R Squared = ,941 (Adjusted R Squared = ,927)

Tabel 16. Hasil uji lanjut Duncan pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap indeks fagositosis mencit putih jantan

Dosis	N	Subset				
		1	2	3	4	5
Na CMC 0,5%	25	1,00000				
50 mg/kgbb	25		1,09576			
100 mg/kgbb	25			1,46940		
200 mg/kgbb	25				1,74516	
Imboost 15 mg/kgbb	25					2,05388
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Tabel 17. Hasil uji lanjut Duncan pengaruh waktu pemberian ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap indeks fagositosis mencit putih jantan

Waktu	N	Subset		
		1	2	3
Menit ke-3	25	1,37232		
Menit ke-6	25	1,40100		
Menit ke-9	25		1,46712	
Menit ke-12	25		1,52868	
Menit ke-15	25			1,59508
Sig.		,374	,058	1,000

Tabel 18. Hasil uji normalitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase eosinofil mencit putih jantan menggunakan uji Shapiro-Wilk

	Dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		<i>Statistic</i>	df	<i>Sig.</i>	<i>Statistic</i>	df	<i>Sig.</i>
Eosinofil	Na CMC 0,5%	,231	5	,200*	,881	5	,314
	50 mg/kgbb	,231	5	,200*	,881	5	,314
	100 mg/kgbb	,231	5	,200*	,881	5	,314
	200 mg/kgbb	,241	5	,200*	,821	5	,119
	Imboost 15 mg/kgbb	,231	5	,200*	,881	5	,314

Tabel 19. Hasil uji homogenitas pengaruh dosis dari ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase eosinofil mencit putih jantan.

<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	<i>Sig.</i>
,134	4	20	,968

Tabel 20. Hasil uji ANOVA satu arah dari pengaruh ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase eosinofil mencit putih jantan.

	<i>Sum of Squares</i>	df	<i>Mean Square</i>	F	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	2,800	4	,700	,921	,471
<i>Within Groups</i>	15,200	20	,760		
<i>Total</i>	18,000	24			

Lampiran 2 (Lanjutan)

Tabel 21. Hasil uji normalitas pengaruh dosis dari ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase neutrofil batang mencit putih jantan menggunakan uji Shapiro-Wilk

Neutrofil Batang	Dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>	<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>
	Na CMC 0,5%	,237	5	,200*	,961	5	,814
	50 mg/kgbb	,241	5	,200*	,821	5	,119
	100 mg/kgbb	,231	5	,200*	,881	5	,314
	200 mg/kgbb	,231	5	,200*	,881	5	,314
	Imboost 15 mg/kgbb	,231	5	,200*	,881	5	,314

Tabel 22. Hasil uji homogenitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase neutrofil batang mencit putih jantan.

<i>Levene Statistic</i>	<i>df1</i>	<i>df2</i>	<i>Sig.</i>
,292	4	20	,880

Lampiran 2 (Lanjutan)

Tabel 23. Hasil uji ANOVA satu arah pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase neutrofil batang mencit putih jantan

	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	2,240	4	,560	,636	,643
<i>Within Groups</i>	17,600	20	,880		
<i>Total</i>	19,840	24			

Tabel 24. Hasil uji normalitas pengaruh dosis dari ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase neutrofil segmen mencit putih jantan menggunakan uji Shapiro-Wilk

Neutrofil Segmen	Dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>	<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>
	Na CMC 0,5%	,141	5	,200*	,979	5	,928
	50 mg/kgbb	,136	5	,200*	,987	5	,967
	100 mg/kgbb	,265	5	,200*	,836	5	,154
	200 mg/kgbb	,175	5	,200*	,974	5	,899
	Imboost 15 mg/kgbb	,213	5	,200*	,939	5	,656

Lampiran 2 (Lanjutan)

Tabel 25. Hasil uji homogenitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase neutrofil segmen mencit putih jantan.

<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	<i>Sig.</i>
,972	4	20	,445

Tabel 26. Hasil uji ANOVA satu arah pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase neutrofil segmen mencit putih jantan

	<i>Sum of Squares</i>	df	<i>Mean Square</i>	F	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	57,040	4	14,260	4,722	,008
<i>Within Groups</i>	60,400	20	3,020		
<i>Total</i>	117,440	24			

Tabel 27. Hasil uji lanjut Duncan pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase neutrofil segmen mencit putih jantan

Dosis	N	<i>Subset for alpha = 0.05</i>	
		1	2
Imboost 15 mg/kgbb	5	39,20	
100 mg/kgbb	5	39,80	
200 mg/kgbb	5		42,20
50 mg/kgbb	5		42,60
Na CMC 0,5%	5		42,80
<i>Sig.</i>		,591	,612

Lampiran 2 (Lanjutan)

Tabel 28. Hasil uji normalitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase limfosit mencit putih jantan menggunakan uji Shapiro-Wilk.

Limfosit	Dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		<i>Statistic</i>	df	<i>Sig.</i>	<i>Statistic</i>	df	<i>Sig.</i>
	Na CMC 0,5%	,300	5	,161	,833	5	,146
	50 mg/kgbb	,254	5	,200*	,914	5	,492
	100 mg/kgbb	,258	5	,200*	,925	5	,563
	200 mg/kgbb	,136	5	,200*	,987	5	,967
	Imboost 15 mg/kgbb	,231	5	,200*	,881	5	,314

Tabel 29. Hasil uji homogenitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase limfosit mencit putih jantan.

<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	<i>Sig.</i>
2,087	4	20	,121

Tabel 30. Hasil uji ANOVA satu arah pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase limfosit mencit putih jantan

	<i>Sum of Squares</i>	df	<i>Mean Square</i>	F	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	286,640	4	71,660	27,562	,000
<i>Within Groups</i>	52,000	20	2,600		
<i>Total</i>	338,640	24			

Lampiran 2 (Lanjutan)

Tabel 31. Hasil uji lanjut Duncan pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50,100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase limfosit mencit putih jantan

Dosis	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Na CMC 0,5%	5	45,00			
50 mg/kgbb	5	46,60	46,60		
100 mg/kgbb	5		48,00	48,00	
200 mg/kgbb	5			50,00	
Imboost 15 mg/kgbb	5				54,80
Sig.		,132	,185	,064	1,000

Tabel 32. Hasil uji normalitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase monosit mencit putih jantan menggunakan uji Shapiro-Wilk

Monosit	Dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	Na CMC 0,5%	,300	5	,161	,883	5	,325
	50 mg/kgbb	,287	5	,200*	,914	5	,490
	100 mg/kgbb	,136	5	,200*	,987	5	,967
	200 mg/kgbb	,237	5	,200*	,961	5	,814
	Imboost 15 mg/kgbb	,300	5	,161	,833	5	,146

Lampiran 2 (Lanjutan)

Tabel 33. Hasil uji homogenitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase monosit mencit putih jantan.

<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	<i>Sig.</i>
1,441	4	20	,257

Tabel 34. Hasil uji ANOVA satu arah pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap persentase monosit mencit putih jantan

	<i>Sum of Squares</i>	df	<i>Mean Square</i>	F	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	11,440	4	2,860	1,682	,193
<i>Within Groups</i>	34,000	20	1,700		
<i>Total</i>	45,440	24			

Tabel 35. Hasil uji normalitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap jumlah sel leukosit total mencit putih jantan menggunakan uji Shapiro-Wilk

Total sel leukosit	Dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	Na CMC 0,5%	,175	5	,200*	,974	5	,899
	50 mg/kgbb	,177	5	,200*	,956	5	,783
	100 mg/kgbb	,173	5	,200*	,970	5	,875
	200 mg/kgbb	,203	5	,200*	,923	5	,549
	Imboost 15 mg/kgbb	,174	5	,200*	,949	5	,730

Lampiran 2 (Lanjutan)

Tabel 36. Hasil uji homogenitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap jumlah total sel leukosit mencit putih jantan.

<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	<i>Sig.</i>
2,375	4	20	,087

Tabel 37. Hasil uji ANOVA satu arah pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap jumlah total sel leukosit mencit putih jantan

	<i>Sum of Squares</i>	df	<i>Mean Square</i>	F	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	112113000,000	4	28028250,000	432,201	,000
<i>Within Groups</i>	1297000,000	20	64850,000		
<i>Total</i>	113410000,000	24			

Tabel 38. Hasil uji lanjut Duncan pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap jumlah total sel leukosit mencit putih jantan

Dosis	N	<i>Subset for alpha = 0.05</i>				
		1	2	3	4	5
Na CMC 0,5%	5	4310,00				
50 mg/kgbb	5		4690,00			
100 mg/kgbb	5			5560,00		
200 mg/kgbb	5				6220,00	
Imboost 15 mg/kgbb	5					10220,00
<i>Sig.</i>		<i>1,000</i>	<i>1,000</i>	<i>1,000</i>	<i>1,000</i>	<i>1,000</i>

Lampiran 2 (Lanjutan)

Tabel 39. Hasil uji normalitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap bobot limpa relatif mencit putih jantan menggunakan uji Shapiro-Wilk

	Dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		<i>Statistic</i>	df	<i>Sig.</i>	<i>Statistic</i>	df	<i>Sig.</i>
Bobot Limpa Relatif	Na CMC 0,5%	,231	5	,200*	,881	5	,314
	50 mg/kgbb	,193	5	,200*	,947	5	,715
	100 mg/kgbb	,240	5	,200*	,860	5	,227
	200 mg/kgbb	,250	5	,200*	,885	5	,332
	Imboost 15 mg/kgbb	,168	5	,200*	,981	5	,940

Tabel 40. Hasil uji homogenitas pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap bobot limpa relatif mencit putih jantan.

<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	<i>Sig.</i>
1,017	4	20	,422

Tabel 41. Hasil uji ANOVA satu arah pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap bobot limpa relatif total mencit putih jantan

	<i>Sum of Squares</i>	df	<i>Mean Square</i>	F	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	1,964	4	,491	424,010	,000
<i>Within Groups</i>	,023	20	,001		
<i>Total</i>	1,987	24			

Lampiran 2 (Lanjutan)

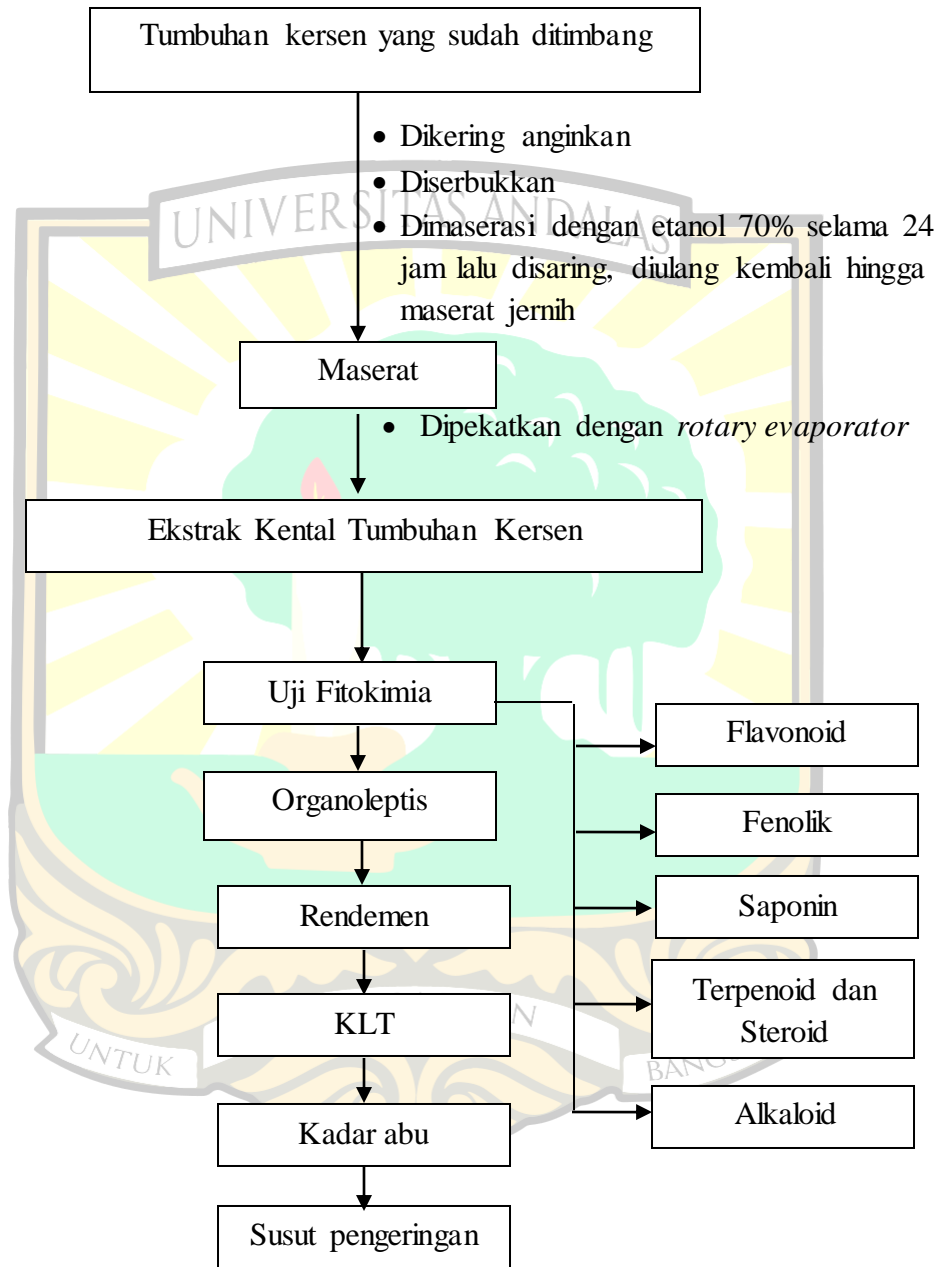
Tabel 42. Hasil uji lanjut Duncan pengaruh dosis ekstrak daun kersen dosis 50, 100 dan 200 mg/kgbb terhadap bobot limpa relatif mencit putih jantan

Dosis	N	<i>Subset for alpha = 0.05</i>				
		1	2	3	4	5
Na CMC 0,5%	5	,3340				
50 mg/kgbb	5		,4660			
100 mg/kgbb	5			,6460		
200 mg/kgbb	5				,9480	
Imboost 15 mg/kgbb	5					1,0740
<i>Sig.</i>		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000



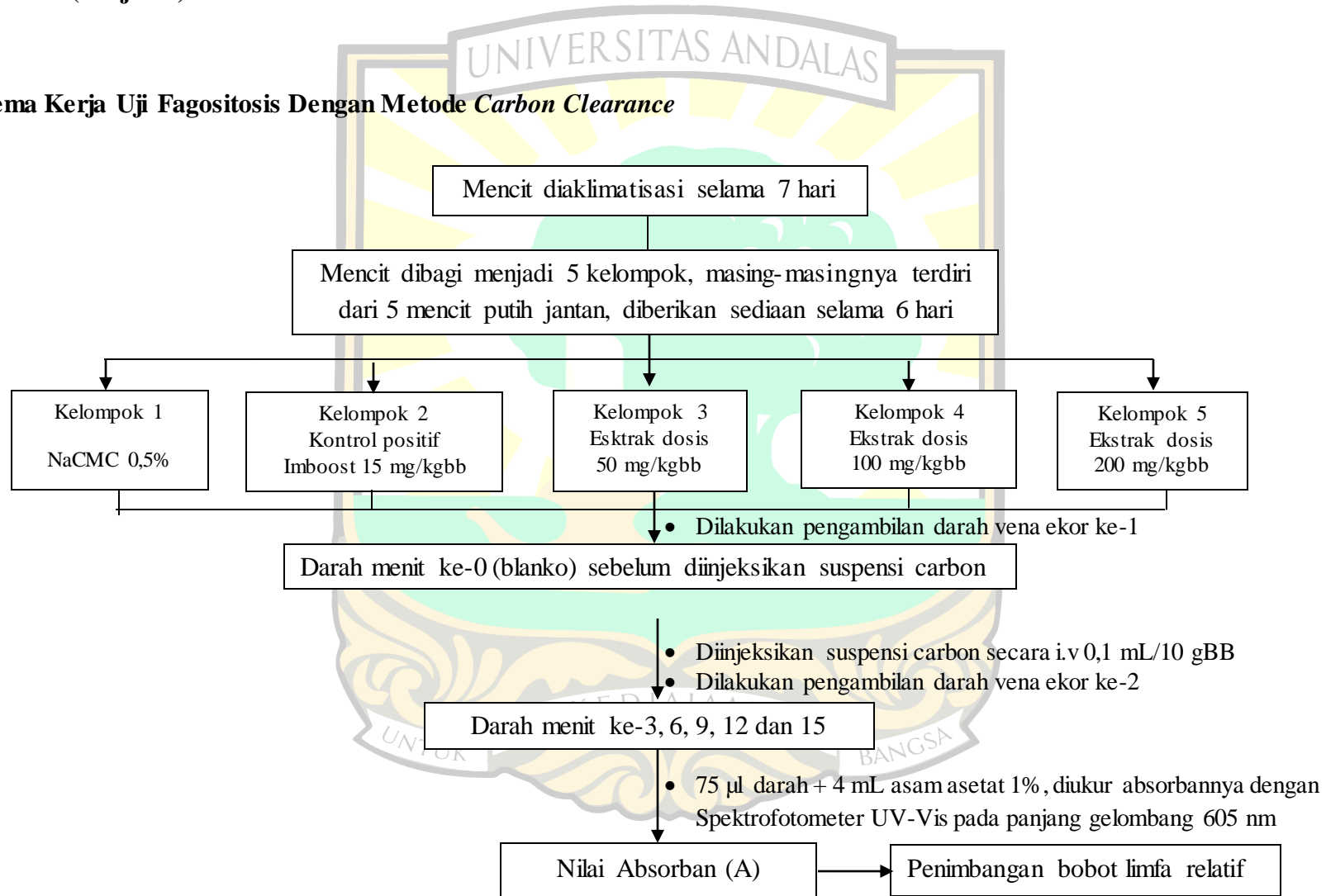
Lampiran 3. Skema Kerja Penelitian

A. Skema Kerja Pengolahan Ekstrak Tumbuhan Kersen (*Montingia calabura L.*)



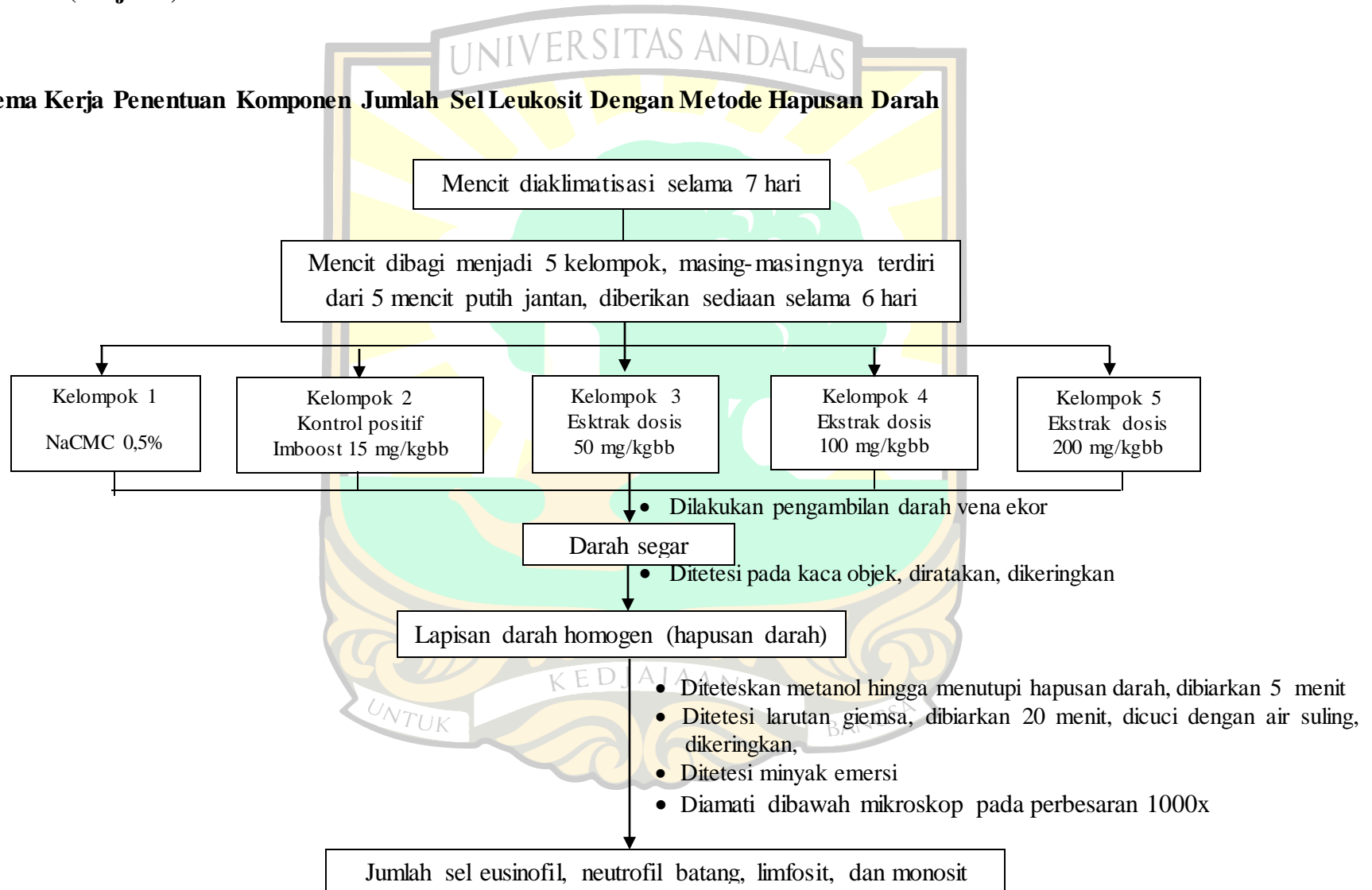
Lampiran 3 (Lanjutan)

B. Skema Kerja Uji Fagositosis Dengan Metode *Carbon Clearance*



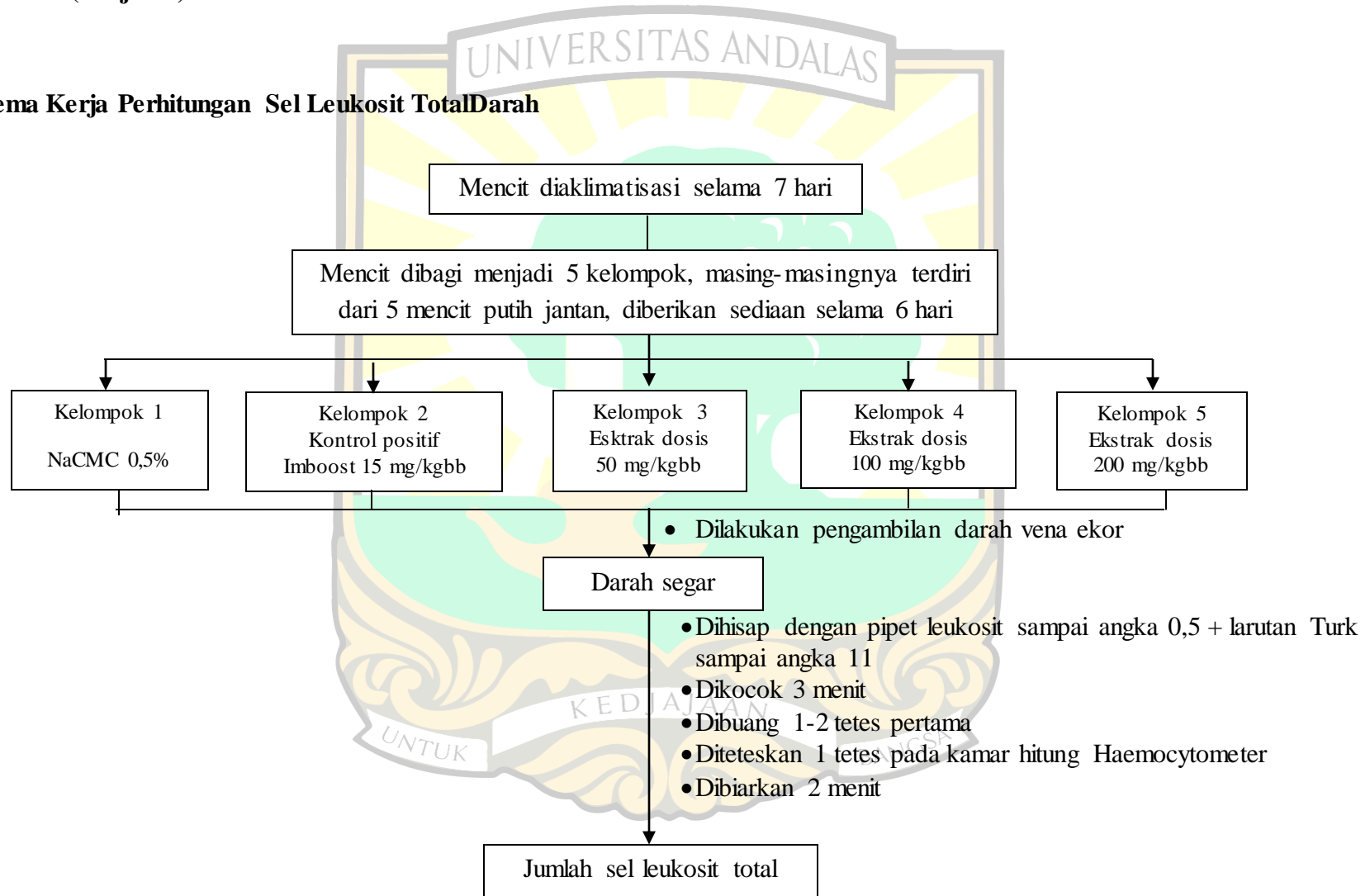
Lampiran 3 (Lanjutan)

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



Lampiran 3 (Lanjutan)

D. Skema Kerja Perhitungan Sel Leukosit Total Darah



Lampiran 4. Foto Hasil Penelitian

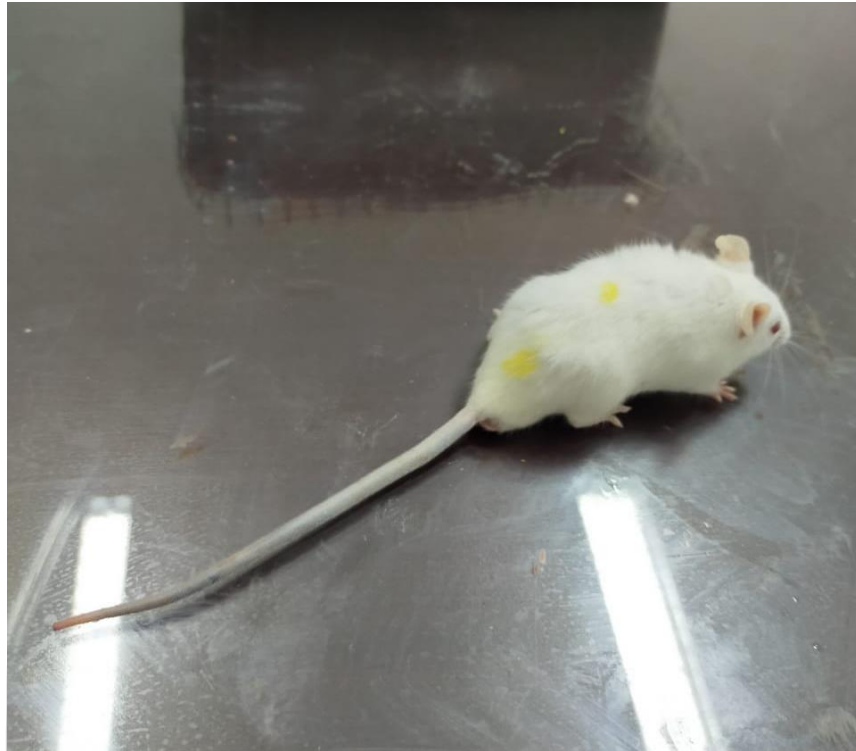


Gambar 10. Uji penetapan kadar abu total

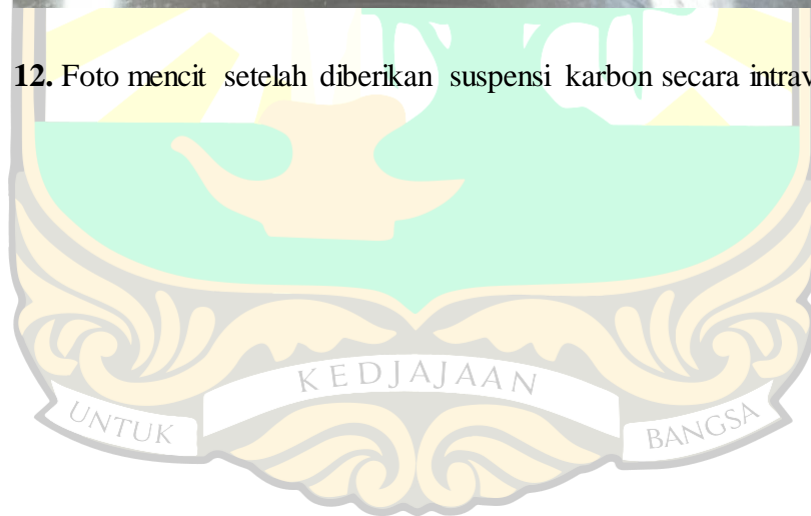


Gambar 11. Proses pengentalan ekstrak daun kersen menggunakan *rotary evaporator* (A) dan ekstrak kental daun kersen (B).


Lampiran 4 (Lanjutan)



Gambar 12. Foto mencit setelah diberikan suspensi karbon secara intravena.



Lampiran 4 (Lanjutan)

 **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 : 372/K-ID/ANDA/XI/2020
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
Febryan Ilham Saputra
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 : Febryan Ilham Saputra
No. BP : 1611013029
Instansi : Fakultas Farmasi UNAND

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

No	Family	Spesies
1.	Muntingiaceae	<i>Muntingia calabura</i> L.

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 20 November 2020
Kepala,

Dr. Nurainas
NIP. 196908141995122001



Gambar 13. Surat identifikasi tumbuhan kersen (*Muntingia calabura* L.).