

**UJI EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN TAPAK LIMAN
(*Elephantopus scaber* L.) TERHADAP AKTIVITAS DAN
KAPASITAS FAGOSITOSIS SEL MAKROFAG DAN
PERSENTASE SEL LEUKOSIT MENCIT PUTIH
JANTAN**

SKRIPSI SARJANA FARMASI



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2018**

PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Megaraswita S

No. BP : 1411012036

Judul Skripsi : Uji efek ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus Scaber* Linn.) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag dan persentase sel leukosit pada 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, Mei 2018

Megaraswita S

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menempuh ujian
Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Andalas



Disetujui oleh:

Pembimbing I



Dr. Yufri Aldi, M.Si, Apt

Pembimbing II



Dwisari Dillasamola, M. Farm, Apt

Skripsi Ini Telah Dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Farmasi

Fakultas Farmasi Universitas Andalas

Pada Tanggal: 9 Juli 2018

No.	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1.	Dr. Yufri Aldi, M.Si, Apt	Ketua	
2.	Dwisari Dillasamola, M.Farm, Apt	Sekretaris	
3.	Dr. Suharti, M.S, Apt	Anggota	
4.	Dr. Muslim Suardi, M.Si, Apt	Anggota	

KATA PENGANTAR

Dengan mengucap Alhamdulillahil'alamin, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan Hidayah-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Uji efek ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus Scaber* Linn.) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag dan persentase sel leukosit pada mencit putih jantan”**. Skripsi ini diajukan sebagai tugas akhir untuk menyelesaikan program pendidikan Strata Satu pada Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang.

Penulisan skripsi ini tidak terlepas dari dorongan doa dan semangat yang diberikan keluarga besar dan teman-teman. Pada kesempatan ini, perkenankanlah penulis menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Keluarga tercinta (Papa, Unang, Oom dan Tante), terkhusus kepada Unang Pasnelyza Karani, S.H, M.Kn yang selalu memberikan dukungan, doa, motivasi, nasehat dan materi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Bapak Dr. H. Yufri Aldi, M.Si, Apt selaku pembimbing I dan Ibu Dwisari Dillasamola, M. Farm., Apt selaku pembimbing II yang telah memberikan nasehat dan bimbingan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Ibuk Dr. Fatma Sri Wahyuni, M.Si, Apt selaku pembimbing akademik yang telah memberikan nasehat dan arahan selama penulis melaksanakan studi hingga menyelesaikan skripsi ini.

4. Bapak / Ibu dosen staf pengajar Fakultas Farmasi yang telah mendidik dan memberikan ilmu yang bermanfaat kepada penulis selama mengikuti perkuliahan di Universitas Andalas.
5. Sahabat sejawat selama masa perkuliahan (Yelli, Uncu, Osy, Mona, Dena, Nabila dan Oca), kawan daun tapak liman (Gita dan Nabila), sahabat rasa keluarga di rumah kedua selama empat tahun (Ai, Queen dan Wike), sahabat yang selalu ada sedari SMA (Iffah, Mutia, Monik dan Ulfa) dan Rekan KKN Sarilamak terkhusus untuk kamar 22 (Atika, Putri, dan Nola) yang telah memberikan dukungan, memberikan pinjaman suara, senda, tawa dan semangat untuk penulis sedari awal masa perkuliahan sampai menyelesaikan skripsi ini.
6. Bima Bhernanda Baytar yang telah setia menemani selama tahun akhir, membantu mengingatkan kekurangan, menyemangati agar skripsi ini bisa terselesaikan.
7. Keluarga BP 36, keluarga besar farmasi angkatan 2014 “INCENDIO” dan KBMF yang telah memberikan dukungan dan semangat serta kebersamaan selama kuliah sampai selesainya skripsi ini.

Terima kasih atas semua bantuan yang telah diberikan kepada penulis, sehingga skripsi ini bisa terselesaikan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan dan masa yang akan datang.

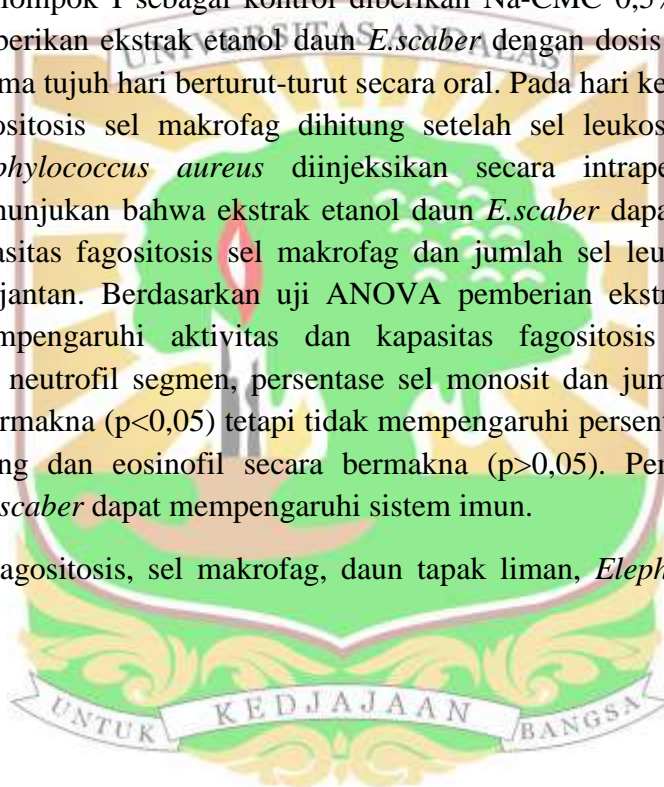
Padang, Mei 2018

Penulis,
Megaraswita S

ABSTRAK

Sistem imun memiliki peran penting dalam melindungi tubuh dari benda-benda yang berasal dari lingkungan, seperti mikroba dan senyawa kimia. Sistem imun dalam melakukan fungsinya melibatkan berbagai macam sel seperti makrofag, leukosit, limfosit dan sel fagosit lainnya. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan pengaruh pemberian ekstrak etanol daun *Elephantopus scaber* Linn terhadap sistem imun berdasarkan pengaruhnya terhadap aktivitas, kapasitas fagositosis sel makrofag, persentase sel leukosit dan jumlah sel leukosit total. Pada penelitian ini digunakan 20 ekor mencit yang dibagi kedalam empat kelompok. Kelompok I sebagai kontrol diberikan Na-CMC 0,5%, kelompok II, III, dan IV diberikan ekstrak etanol daun *E.scaber* dengan dosis 10, 30 and 100 mg/kgBB selama tujuh hari berturut-turut secara oral. Pada hari ke-8, aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag dihitung setelah sel leukosit dihitung dan suspensi *Staphylococcus aureus* diinjeksikan secara intraperitoneal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *E.scaber* dapat meningkatkan aktivitas, kapasitas fagositosis sel makrofag dan jumlah sel leukosit total pada mencit putih jantan. Berdasarkan uji ANOVA pemberian ekstrak etanol daun *E.scaber* mempengaruhi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag, persentase sel neutrofil segmen, persentase sel monosit dan jumlah sel leukosit total secara bermakna ($p < 0,05$) tetapi tidak mempengaruhi persentase sel limfosit, neutrofil batang dan eosinofil secara bermakna ($p > 0,05$). Pemberian ekstrak etanol daun *E.scaber* dapat mempengaruhi sistem imun.

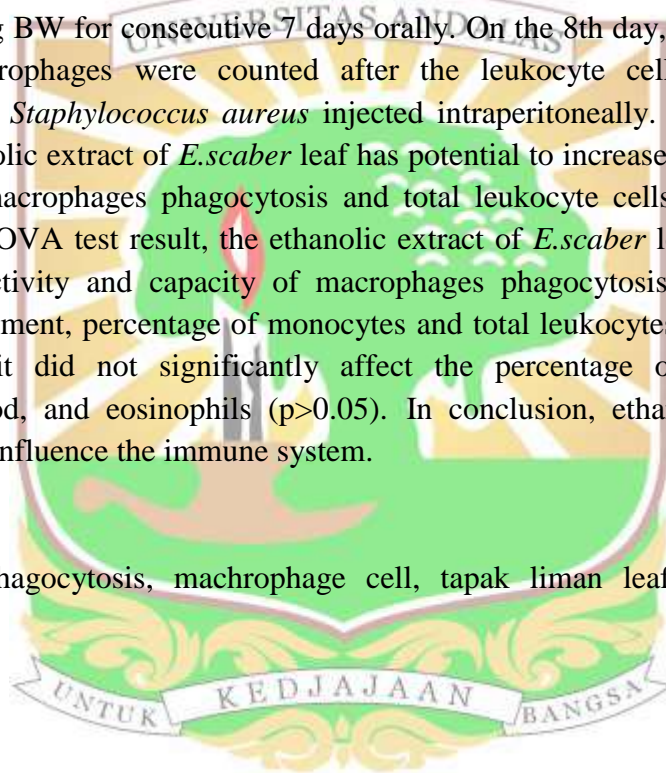
Kata kunci: Fagositosis, sel makrofag, daun tapak liman, *Elephantopus Scaber* Linn.



ABSTRACT

The major function of the immune system is to protect the host from environmental agents such as microbes or chemicals. The immune system can involve the wide variety cells and protein such as macrophages, leukocytes, lymphocytes, complement and other phagocytic cells. In this research, the effect of *Elephantopus scaber* Linn leaf ethanolic extract on the immune system investigated based on its macrophages phagocytosis activity and capacity, the percentage of leukocyte cells, and total leukocyte cells. Twenty male mice divided into four groups. Group one received Na-CMC 0.5% as control. Group II, III, IV were treated with the ethanolic extract of *E.scaber* leaf at the various dose of 10, 30, 100 mg/kg BW for consecutive 7 days orally. On the 8th day, the activity and capacity macrophages were counted after the leukocyte cells counted and suspension of *Staphylococcus aureus* injected intraperitoneally. Results showed that the ethanolic extract of *E.scaber* leaf has potential to increase the activity and capacity of macrophages phagocytosis and total leukocyte cells of male mice. Based on ANOVA test result, the ethanolic extract of *E.scaber* leaf significantly affects the activity and capacity of macrophages phagocytosis, percentage of neutrophil segment, percentage of monocytes and total leukocytes cells ($p < 0.05$). In contrast, it did not significantly affect the percentage of lymphocytes, neutrophils rod, and eosinophils ($p > 0.05$). In conclusion, ethanolic extract of *E.scaber* can influence the immune system.

Keywords: Phagocytosis, macrophage cell, tapak liman leaf, *Elephantopus Scaber* Linn.



DAFTAR ISI

COVER	i
PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA	ii
PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
PERTAHANAN SKRIPSI	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tumbuhan Tapak Liman (<i>Elephantopus scaber</i> L.)	4
2.1.1 Taksonomi	4
2.1.3 Sinonim	4
2.1.4 Deskripsi	4
2.1.5 Kegunaan dan fitokimia	6
2.2 Ekstrak	7
2.3 Ekstraksi	8
2.4 Sistem Imun	10
2.4.1 Sel Fagositik	13
2.4.2 Makrofag	15
2.4.3 Fagositosis	17
2.4.4 Limfosit	19
2.4.5 Imunomodulator	20
III. PELAKSANAAN PENELITIAN	22
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	22
3.2 Metode Penelitian	22

3.3	Alat dan Bahan	23
3.3.1	Alat.....	23
3.3.2	Bahan.....	23
3.4	Prosedur Kerja	23
3.4.1	Pengambilan Sampel.....	23
3.4.2	Identifikasi Sampel.....	24
3.4.3	Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Tapak Liman	24
3.4.4	Pembuatan Ekstrak.....	24
3.4.5	Penentuan Rendemen	24
3.4.6	Skrining Fitokimia	25
3.4.7	Karakterisasi Ekstrak	26
3.4.8	Penyiapan Hewan percobaan	28
3.4.9	Penentuan Dosis	29
3.4.10	Penyiapan Suspensi Ekstrak etanol daun tapak liman	29
3.4.11	Kultur Bakteri.....	29
3.4.12	Pemberian Ekstrak	30
3.4.13	Pengujian Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag.....	30
3.4.14	Menghitung Persentase Sel Leukosit	31
3.4.15	Menghitung Jumlah Sel Leukosit Total	31
3.5	Analisis Data	32
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1	Hasil.....	33
4.2	Pembahasan	37
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	46
5.1	Kesimpulan.....	46
5.2	Saran	46
	DAFTAR PUSTAKA	47

DAFTAR TABEL

I.	Rendemen ekstrak etanol daun tapak liman.....	57
II.	Organoleptis ekstrak etanol daun tapak liman	57
III.	Susut pengeringan ekstrak etanol daun tapak liman	57
IV.	Kadar abu total ekstrak etanol daun tapak liman	57
V.	Karakterisasi ekstrak etanol daun tapak liman.....	58
VI.	Skrining fitokimia ekstrak etanol daun tapak liman	58
VII.	Nilai Rf ekstrak etanol daun tapak liman.....	59
VIII.	Hasil perhitungan persentase aktivitas fagositosis sel makrofag	64
IX.	Hasil perhitungan kapasitas fagositosis sel makrofag.....	65
X.	Hasil perhitungan persentase sel leukosit	66
XI.	Hasil perhitungan jumlah sel leukosit total.....	67
XII.	Hasil uji normalitas aktivitas fagositosis sel makrofag.....	69
XIII.	Hasil uji homogenitas aktivitas fagositosis sel makrofag	69
XIV.	Hasil uji statistik ANOVA satu arah aktivitas fagositosis sel makrofag ..	69
XV.	Hasil uji statistik lanjutan Duncan aktivitas fagositosis sel makrofag.....	69
XVI.	Hasil uji normalitas kapasitas fagositosis sel makrofag.....	70
XVII.	Hasil uji homogenitas kapasitas fagositosis sel makrofag	70
XVIII.	Hasil uji statistik ANOVA satu arah kapasitas fagositosis sel makrofag .	70
XIX.	Hasil uji statistik lanjutan Duncan kapasitas fagositosis sel makrofag.....	70
XX.	Hasil uji normalitas persentase sel leukosit	71
XXI.	Hasil uji homogenitas persentase sel leukosit.....	71
XXII.	Hasil uji statistik ANOVA satu arah persentase sel leukosit.....	72
XXIII.	Hasil uji statistik lanjutan Duncan neutrofil batang.....	72
XXIV.	Hasil uji statistik lanjutan Duncan neutrofil segmen	73
XXV.	Hasil uji statistik lanjutan Duncan eosinofil	73
XXVI.	Hasil uji statistik lanjutan Duncan limfosit.....	73
XXVII.	Hasil uji statistik lanjutan Duncan monosit	74
XXVIII.	Hasil uji normalitas jumlah sel leukosit total.....	74
XXIX.	Hasil uji homogenitas jumlah sel leukosit total	74
XXX.	Hasil uji statistik ANOVA satu arah jumlah sel leukosit total.....	74
XXXI.	Hasil uji statistik lanjutan Duncan jumlah sel leukosit total.....	75

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tumbuhan Tapak Liman.	5
Gambar 2. Daun Tapak Liman.....	6
Gambar 3. Tahapan fagositosis membunuh mikroba intraselular.....	19
Gambar 4. Skema kerja pembuatan ekstrak etanol daun tapak liman.....	50
Gambar 5. Skema kultur bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Gambar 6. Skema penentuan aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag ...	52
Gambar 7. Skema penentuan persentase sel leukosit darah.....	53
Gambar 8. Skema penentuan jumlah sel leukosit total.....	54
Gambar 9. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik	55
Gambar 10. Hasil identifikasi herbarium tumbuhan tapak liman	56
Gambar 11. Profil KLT ekstrak daun tapak liman.....	59
Gambar 12. Tumbuhan tapak liman.....	60
Gambar 13. Simplisia daun tapak liman	60
Gambar 14. Cairan peritoneal mencit putih jantan	61
Gambar 15. Sel leukosit pada alat hemasitometer	61
Gambar 16. Sel makrofag peritoneal mencit putih jantan.....	62
Gambar 17. Sel leukosit mencit putih jantan	63
Gambar 18. Grafik aktivitas fagositosis sel makrofag.....	64
Gambar 19. Grafik kapasitas fagositosis sel makrofag dengan kelompok	65
Gambar 20. Grafik persentase sel leukosit.....	67
Gambar 21. Grafik jumlah total sel leukosit	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian	50
Lampiran 2. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik.....	55
Lampiran 3. Hasil identifikasi herbarium tumbuhan tapak liman.....	56
Lampiran 4. Hasil Karakterisasi ekstrak etanol daun tapak liman.....	57
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian.....	60
Lampiran 6. Hasil Penelitian.....	64
Lampiran 7. Hasil uji statistik data penelitian.....	69





I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sistem imun merupakan mekanisme pertahanan tubuh sebagai perlindungan dari bahaya berbagai benda asing bagi tubuh seperti bakteri, virus, jamur, parasit dan protozoa. Sistem imun dapat dibagi menjadi sistem imun nonspesifik dan spesifik. Sistem imun nonspesifik merespon lebih cepat dan bertindak sebagai pertahanan terdepan dalam menghadapi mikroba dan dapat memberikan respon langsung, sedangkan sistem imun spesifik memberikan perlindungan lebih baik terhadap antigen yang sudah pernah terpajan sebelumnya (Baratawidjaja, 2009; Abbas, *et al.*, 2015; Radji, 2015).

Sistem imun nonspesifik berperan sebagai pertahanan pertama terhadap serangan mikroorganisme. Komponen sistem imun nonspesifik yaitu sel NK (*natural killer*), sel mast, sel fagosit dan eosinofil. Salah satu sel fagosit yang berperan penting dalam sistem imunitas adalah komponen sel darah putih (leukosit) yaitu monosit. Monosit terdapat di dalam sirkulasi darah dan jika bermigrasi ke jaringan akan berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag yang teraktifasi akan menjalani fungsi fagositosis terhadap bakteri, protozoa, virus dan sel tumor. Fagositosis adalah proses dimana sel-sel terlibat dalam penelanan sel-sel patogen, sehingga patogen dapat dimatikan dan dimusnahkan. Dalam sistem imun spesifik yang berperan adalah sel limfosit. Limfosit terbagi dua yaitu limfosit B dan limfosit T, limfosit B berperan merangsang antibodi sebagai

pertahanan tubuh terhadap antigen, sedangkan limfosit T berperan merangsang makrofag untuk menghancurkan mikroba (Baratawidjaja, 2009).

Mekanisme pertahanan tubuh terhadap serangan mikroorganisme dapat ditingkatkan dengan adanya senyawa imunomodulator yang bersifat imunostimulasi. Imunostimulan adalah senyawa yang dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non spesifik. Peningkatan mekanisme pertahanan tubuh atau sistem imun dapat diukur dari peningkatan jumlah sel darah putih (leukosit), aktivitas dan kapasitas fagositosis oleh makrofag dan terjadinya peningkatan kadar limfosit, yaitu limfosit B maupun limfosit T (Kresno, 1996; Baratawidjaja, 2009).

Peningkatan aktivitas sistem imun sekarang ini berkembang ke arah penggunaan bahan alam sebagai imunomodulator. Obat tradisional umumnya lebih mudah pembuatannya dan dapat dibuat atau ditanam sendiri. Selain itu, dengan menggunakan tumbuhan obat sebagai alternatif pengobatan merupakan usaha untuk memanfaatkan sumber daya alam dan dapat melestarikan lingkungan hidup. Pemanfaatan sumber daya alam di sekitar kita sangat perlu dikembangkan, terlebih pemanfaatannya dalam bidang kesehatan (Katno, 2002).

Salah satu tumbuhan yang berkhasiat secara tradisional adalah tumbuhan tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) dari famili Asteraceae. Tapak liman merupakan tumbuhan semak liar yang biasa ditemukan di seluruh daerah tropis. Tumbuhan ini secara tradisional telah digunakan sebagai obat diuretik, antioksidan, antibakteri, antihepatotoksik, antipiretik, tonik batu ginjal, pengobatan penyakit cacangan dan pengobatan hepatitis (Hammer, 1993; Sheeba, *et al.*, 2012).

Senyawa kimia yang terkandung di dalam tumbuhan tapak liman adalah deoxyelephantopin, scabertopin, isoscabertopin, isodeoxyelephantopin, 11.13-dihydrodeoxyelephantopin (Silva, *et al.*, 1981; Paul, *et al.*, 1996; Xu, *et al.*, 2006). Daun tapak liman juga mengandung flavonoid 6,20 % (BPOM RI, 2004). Tumbuhan tapak liman memiliki efek sebagai antibakteri, karena kandungan senyawa flavonoid di dalam tumbuhan tapak liman dapat memodifikasi sel alergen, bakteri, virus, dan karsinogen. Sehingga, berpotensi sebagai antialergi, antibakteri, antimikroba dan antikanker (Cushnie, 2005; Anitha, *et al.*, 2012).

Kandungan tumbuhan tapak liman yaitu empat sesquiterpene (deoxyelephantopin, isoscabertopin, isodeoxyelephantopin, dan scabertopin) memiliki potensi sebagai antitumor (Xu, *et al.*, 2006; Geetha, *et al.*, 2011). Penelitian yang dilakukan Listyowati (2013) melaporkan bahwa fraksi eter ekstrak etanol daun tapak liman mengandung senyawa flavonoid dan bersifat sitotoksik dan mampu menginduksi apoptosis terhadap sel HeLa (sel kanker payudara) sehingga dapat meningkatkan fagositosis sel. Tumbuhan tapak liman dapat berpotensi sebagai antioksidan dan mempunyai aktivitas sebagai antihepatotoksik (Sheeba, *et al.*, 2012).

Berdasarkan uraian diatas, terlihat bahwa penelitian terhadap daun tapak liman mengenai sistem imun belum banyak. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek dari daun tapak liman terhadap sistem imun tubuh, hal ini dapat diketahui dari aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag, persentase jumlah sel leukosit dan jumlah sel leukosit total pada mencit putih jantan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.)

Tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) merupakan salah satu tumbuhan obat yang dikenal masyarakat untuk mengobati berbagai penyakit. Pada tipe penggunaan lahan di dataran rendah seperti sawah, pekarangan dan tegalan juga ditemukan adanya tumbuhan tapak liman (BPOM RI, 2008).

2.1.1 Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Asterales
Suku	: Asteraceae
Marga	: <i>Elephantopus</i>
Spesies	: <i>Elephantopus scaber</i> Linn (BPOM RI, 2008).



2.1.3 Sinonim

Tutup bumi (Melayu); Tapak liman (Sunda); Tapak liman (Jawa); Tapak lana (Madura) (BPOM RI, 2008).

2.1.4 Deskripsi

Habitus tapak liman berupa tumbuhan semak semusim dengan tinggi ± 80 cm. Batang berkayu, bentuknya silindris, percabangan menggarpu, warnanya

hijau, batang berbulu putih, diameternya ± 2 cm, Daun tunggal, bentuknya corong, tepi daun bergerigi, ujungnya tumpul dan pangkalnya runcing dengan panjang 15-25 cm dan lebar 5-7 cm, permukaan daun kasap dan berbulu, pertulangan daun menyirip, daun berwarna hijau. Kelopak bunga segi tiga, berambut dan terdiri dari lima helai, berwarna hijau, mahkota berbentuk tabung, berambut dengan panjang 7-10 mm, warnanya ungu kemerahan kadang berwarna putih. Buahnya keras, berambut dan berwarna hitam. Bentuk biji kerucut dengan panjang 4 mm dan diameter 1 mm, warnanya coklat kehitaman. Akar tunggang, berwarna putih (BPOM RI, 2008).



Gambar 1. Tumbuhan Tapak Liman (BPOM RI,2008).



Gambar 2. Daun Tapak Liman (BPOM RI, 2008).

2.1.5 Kegunaan dan fitokimia.

Tumbuhan tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) secara tradisional tumbuhan ini berkhasiat tumbuhan ini secara tradisional telah digunakan sebagai obat diuretik, anti-oksidan, antibakteri, antihepatotoksik antipiretik, tonik, batu ginjal, antihelminthic dan pengobatan hepatitis (Hammer, 1993; Sheeba, *et al.*, 2012).

Senyawa kimia yang terkandung di dalam tumbuhan tapak liman adalah deoxyelephantopin, scabertopin, isoscabertopin, isodeoxyelephantopin, 11.13-dihydrodeoxyelephantopin (Silva, *et al.*, 1981; Paul, *et al.*, 1996; Xu, *et al.*, 2006). Daun tapak liman juga mengandung flavonoid 6,20 % (BPOM RI, 2004). Tumbuhan tapak liman memiliki efek sebagai antibakteri, karena kandungan senyawa flavonoid di dalam tumbuhan tapak liman dapat memodifikasi sel alergen, bakteri, virus, dan karsinogen. Sehingga, berpotensi sebagai antialergi, antibakteri, antimikroba dan antikanker (Cushnie, 2005; Anitha, *et al.*, 2012).

Kandungan tumbuhan tapak liman yaitu empat sesquiterpene (deoxyelephantophin, isoscabertopin, isodeoxyelephantopin, dan scabertopin) memiliki potensi sebagai antitumor (Xu, *et al.*, 2006; Geetha, *et al.*, 2011). Penelitian yang dilakukan Listyowati (2013) melaporkan bahwa fraksi eter ekstrak etanol daun tapak liman mengandung senyawa flavonoid dan bersifat sitotoksik dan mampu menginduksi apoptosis terhadap sel HeLa (sel kanker payudara) sehingga dapat meningkatkan fagositosis sel. Tumbuhan tapak liman dapat berpotensi sebagai antioksidan dan mempunyai aktivitas sebagai antihepatotoksik (Sheeba, *et al.*, 2012).

2.2 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hamper semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000).

Faktor yang berpengaruh pada mutu ekstrak:

1. Faktor Biologi

Mutu ekstrak dipengaruhi dari bahan asal (tumbuhan obat), dipandang secara khusus dari segi biologi yaitu identitas jenis, lokasi tumbuhan asal, metoda pemanenan, penyimpanan bahan, umur tumbuhan dan bagian yang digunakan.

2. Faktor Kimia

Mutu ekstrak dipengaruhi dari bahan asal (tumbuhan obat), dipandang secara khusus dari kandungan kimia yaitu :

- a. Faktor internal, seperti jenis senyawa aktif dalam bahan, komposisi kualitatif senyawa aktif, kadar total rata-rata senyawa aktif.
- b. Faktor eksternal, seperti metode ekstraksi perbandingan ukuran alat ekstraksi, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, kandungan logam berat, ukuran kekerasan, dan kekeringan bahan (Depkes RI, 2000).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Kelarutan dan stabilitas senyawa pada simplisia terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat, dan derajat keasaman dipengaruhi struktur kimia yang berbeda-beda (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi dengan pelarut :

- a. Cara dingin

1. Maserasi

Maserasi ialah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan atau pengocokan pada temperature ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Cara ini dapat menarik zat-zat aktif yang tahan pemanasan maupun tidak tahan pemanasan (Depkes RI, 2000).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang dilakukan pada temperature ruangan (kamar). Proses ini terdiri

dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi yang sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak yang jumlahnya 1 – 5 kali bahan. Ekstraksi ini membutuhkan pelarut yang banyak (Depkes RI, 2000).

b. Cara Panas

1. Refluks

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relative konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3 – 5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000).

2. Soxhletasi

Soxhletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi berkelanjutan dengan jumlah pelarut yang konstan dengan adanya pendinginan balik (Depkes RI, 2000).

3. Digesti

Digesti adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut air pada temperature penangas air mendidih, temperature terukur $96^{\circ} - 98^{\circ} C$ selama waktu tertentu (15 – 20 menit). Infus pada umumnya digunakan untuk menarik atau mengekstraksi zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Hasil dari ekstrak ini akan menghasilkan zat aktif yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh

kuman dan kapang, sehingga ekstrak yang diperoleh dengan infus tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Depkes RI, 2000).

4. Dekok

Dekok adalah infus yang waktunya lebih lama (lebih dari 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 2000).

2.4 Sistem Imun

Sistem imun merupakan mekanisme pertahanan tubuh sebagai perlindungan dari bahaya berbagai bahan dalam lingkungan yang dianggap asing bagi tubuh seperti bakteri, virus, jamur, parasit dan protozoa. Sistem imun dapat dibagi menjadi sistem imun nonspesifik dan spesifik. Sistem imun nonspesifik merespon lebih cepat dan bertindak sebagai pertahanan terdepan dalam menghadapi mikroba dan dapat memberikan respon langsung, sedangkan sistem imun spesifik memberikan perlindungan lebih baik terhadap antigen yang sudah pernah terpajan sebelumnya (Baratawidjaja, 2009; Abbas, *et al.*, 2015; Radji, 2015).

Sistem imun memiliki tiga fungsi yaitu fungsi pertahanan (melawan patogen, fungsi homeostasis (mempertahankan keseimbangan kondisi tubuh dengan cara memusnahkan sel-sel yang sudah tidak berguna) dan pengawasan (*surveillance*). Pada fungsi pengawasan dini (*surveillance*) sistem imun akan mengenali sel-sel abnormal yang timbul di dalam tubuh dikarenakan virus maupun zat kimia. Sistem imun akan mengenali sel abnormal tersebut dan memusnahkannya. Fungsi fisiologis sistem imun yang terpenting adalah

mencegah infeksi dan melakukan pemusnahan terhadap infeksi yang sudah ada (Abbas, *et al.*, 2015).

Sistem imun dapat dibagi menjadi sistem imun nonspesifik dan spesifik :

A. Sistem imun nonspesifik

Sistem imun nonspesifik adalah mekanisme tidak menunjukkan spesifitas terhadap bahan asing dan mampu melindungi tubuh terhadap banyak patogen potensial. Sistem tersebut merupakan pertahanan terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroba dan dapat memberikan respon langsung (Baratawidjaja, 2009).

Yang termasuk dalam sistem imun nonspesifik adalah :

a. Pertahanan fisik atau mekanik

Dalam sistem pertahanan fisik atau mekanik, kulit, selaput lendir, silia saluran nafas, batuk dan bersin, merupakan garis pertahanan terdepan terhadap infeksi (Baratawidjaja, 2009).

b. Pertahanan biokimia

Kebanyakan mikroba tidak dapat menembus kulit yang sehat, namun beberapa dapat masuk melalui kelenjar sebaceous dan folikel rambut. pH asam keringat dan sekresi sebaceous, berbagai asam lemak yang dilepas kulit mempunyai efek denaturasi terhadap protein membrane sel, sehingga dapat mencegah terjadinya infeksi pada kulit (Baratawidjaja, 2009).

c. Pertahanan humoral

Menggunakan molekul larut yang diproduksi ditempat infeksi atau cedera dan berfungsi lokal. Molekul tersebut antara lain adalah peptida

antimikroba seperti defensin, katalidisin, dan IFN dengan efek anti viral (Baratawidjaja, 2009).

d. Pertahanan selular

Fagosit, sel NK, sel mast dan eosinofil berperan dalam sistem imun nonspesifik selular. Sel-sel imun tersebut dapat ditemukan dalam sirkulasi darah atau jaringan. Contoh sel yang dapat ditemukan dalam sirkulasi adalah neutrofil, eosinofil, basofil, monosit, dan makrofag (Baratawidjaja, 2009).

B. Sistem imun spesifik

Berbeda dengan sistem imun nonspesifik, sistem imun spesifik mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Benda asing yang pertama kali terpajan dengan tubuh segera dikenal oleh sistem imun spesifik, paparan tersebut menimbulkan sensitasi, sehingga antigen yang sama masuk ketubuh untuk kedua kali akan dikenal lebih cepat dan kemudian dihancurkan (Baratawidjaja, 2009).

Ada tiga tipe sel yang terlibat dalam sistem imun spesifik yaitu limfosit T atau sel T, limfosit B atau sel B dan APC (*antigen presenting cell*) yaitu makrofag (Benjamini, *et al.*, 2000). Sistem imun spesifik meliputi aktivasi dan maturasi sel T, sel mediator dan sel B untuk memproduksi antibodi yang cukup untuk melawan antigen (Kresno, 1996). Respon imun spesifik terdiri dari respon imun seluler (*cell-mediated immunity*) dan respon imun humoral. Perbedaan kedua respon imun tersebut terletak pada molekul yang berperan dalam melawan agen infeksi, namun tujuan utamanya sama yaitu untuk menghilangkan antigen (Benjamini, *et al.*, 2000).

2.4.1 Sel Fagositik

Sel-sel yang berperan dalam fagositosis dalam sistem imun non spesifik yaitu:

1. Fagosit Mononuklear

Fagosit mononuklear terdiri dari monosit dalam sirkulasi darah dan makrofag yang terdapat di jaringan. Monosit dihasilkan oleh *stem cell* dalam sumsum tulang. Di dalam darah, sel monosit hanya bertahan sekitar 1 atau 2 hari saja, lalu bermigrasi ke dalam jaringan, di dalam jaringan monosit akan berdiferensiasi menjadi makrofag dan akan menjalankan fungsi fagositosis (Bratawidjaja, 2009).

2. Fagosit Polimorfonuklear (Granulosit)

Granulosit berjumlah sekitar 60-70 % dari jumlah total sel leukosit dan ditemukan juga pada jaringan ekstraseluler. Sel dikelompokkan menjadi sel neutrofil, eosinofil, dan basofil (Bratawidjaja, 2009; Subowo, 2013).

a. Neutrofil

Neutrofil menjadi 90 % dari seluruh granulosit dalam sirkulasi, berdiameter 10 – 20 μm . Inti neutrofil granulosit mempunyai bentuk khas bersegmen-segmen sampai lima lobus dan kromatin inti berwarna gelap. Sitoplasma banyak berwarna merah muda dan mengandung granula.

Neutrofil akan bertahan hidup selama 6-10 jam, kemudian masuk ke jaringan dan hanya hidup beberapa hari. Seperti halnya sel makrofag, fungsi neutrofil yang utama adalah memberikan respon imun nonspesifik dengan

melakukan fagositosis serta membunuh atau menyingkirkan mikroorganisme yang masuk (Kresno, 1996).

b. Eosinofil

Eosinofil merupakan 2-5 % dari total sel leukosit normal. Eosinofil mengandung granul yang lebih besar dan berwarna merah pada pewarnaan eosin. Intinya berlobus-lobus tetapi biasanya hanya 2 atau 3 lobus. Granul sitoplasmanya berwarna merah cerah yang sebenarnya merupakan paket-paket enzim seperti pada neutrofil. Secara fungsional, eosinofil memberikan respon terhadap rangsangan kemotaksis dan mencerna berbagai macam partikel dengan cara fagositosis. Eosinofil berperan penting sebagai perantara dalam respon alergi, pertahanan serangan parasite, serta dapat juga memakan kompleks antigen-antibodi (Bratawidjaja, 2009).

c. Basofil

Basofil ditemukan dalam jumlah yang sangat kecil dalam sirkulasi (<0,5%). Granulnya besar berwarna biru kehitaman atau biru tua, mempunyai inti dengan 7 lobus, mengandung heparin, leukotriene dan histamin. Sel ini sangat erat kaitannya dengan sel mast, karena secara struktur, fungsi dan poliferasinya serupa dengan basofil. Bedanya adalah sel mast hanya ditemukan dalam jaringan dan basofil di dalam darah (Bratawidjaja, 2009).

d. Sel NK (*Natural Killer*)

Sel NK adalah bagian dari sel limfosit. Jumlahnya sekitar 5-15 % dari limfosit dalam sirkulasi dan 45% dari limfosit dalam jaringan. Istilah NK berasal dari kemampuannya yang dapat membunuh berbagai sel tanpa bantuan tambahan

untuk aktivasinya. Sel NK tidak memiliki penanda sel B, sel T ataupun immunoglobulin. Sel ini mengenal dan membunuh sel terinfeksi tetapi tidak membunuh sel-sel normal (Bratawidjaja, 2009).

e. Sel Dendritik

Sel dendritik (SD) berasal dari sel asal dalam sumsum tulang atau precursor monosit dalam darah. Sel ini ditemukan <0,1% dalam darah. Sedikitnya dikenal empat jenis SD yaitu sel Langerhans, sel interstisial, SD asal monosit dan SD asal plasmositoid. Sel ini berfungsi sebagai APC (*Antigen Presenting Cell*) yang berperan pada awal pengenalan antigen asing, mengikat antigen, mengolah dan mempresentasikan terhadap makrofag (Bratawidjaja, 2009).

2.4.2 Makrofag

Makrofag adalah monosit yang meninggalkan sirkulasi darah dan berubah agar menetap di jaringan dengan fungsi memfagositosis mikroorganisme dan kompleks molekul asing lainnya. Sel fagosit mononuklear adalah sel efektor yang berperan penting dalam imunitas nonspesifik maupun imunitas spesifik. Sel fagosit mononuklear yang paling dominan adalah makrofag. Makrofag berperan penting dalam pertahanan hospes karena memproduksi sitokin yang menginisiasi dan meregulasi inflamasi. Makrofag akan memakan dan menghancurkan mikroba, serta membersihkan jaringan yang mati dan menginisiasi proses perbaikan jaringan. Makrofag berperan dalam imunitas nonspesifik melalui aksi fagositosis mikroba dan produksi sitokin yang selanjutnya akan mengaktifkan mediator-mediator inflamasi (Abbas, *et al.*, 2015).

Sel ini berasal dari sel induk pluripoten yang mengalami diferensiasi menjadi sel pre-monosit yang meninggalkan sumsum tulang dan masuk ke dalam sirkulasi untuk selanjutnya berdiferensiasi menjadi monosit matang. Sel leukosit memiliki kandungan berupa monosit yang matang akan bermigrasi ke berbagai jaringan untuk berdiferensiasi menjadi makrofag jaringan spesifik dengan berbagai fungsi. Makrofag yang hidup dalam jaringan sebagai makrofag residen (*fixed macrophage*) berbentuk khusus tergantung jaringan yang ditempati, misalnya di usus (makrofag intestinal), kulit (sel dendritik atau sel Langerhans), paru (makrofag alveolar, sel Langerhans), hati (sel Kuppfer), otak (sel mikroglia), ginjal (sel mesangial), jaringan ikat (histosit), tulang (osteoklas) dan cairan peritoneum (makrofag peritoneal) (Baratawidjaja, 2009).

Makrofag memiliki dua fungsi utama yaitu menelan dan menghancurkan agen infeksi yang masuk ke dalam tubuh serta mengambil antigen dan memprosesnya untuk kemudian menyajikan antigen tersebut pada permukaannya kepada sel T. Fungsi makrofag yang kedua disebut dengan *Antigen Presenting Cell* (APC). Makrofag dan monosit dapat hidup lama, mempunyai beberapa granula dan melepaskan berbagai bahan di antaranya lisozim, komplemen, interferon dan sitokin yang semuanya berkontribusi dalam pertahanan nonspesifik maupun spesifik (Coligan, *et al.*, 2010).

Makrofag yang teraktivasi adalah makrofag yang memiliki kemampuan membunuh mikroba yang lebih berkembang dibanding makrofag yang tidak aktif (Coligan, *et al.*, 2010). Penghancuran mikroorganisme atau antigen terjadi dalam

beberapa tingkat yaitu kemotaksis, menangkap, memakan, fagositosis, memusnahkan dan mencerna (Baratawidjaja, 2009).

2.4.3 Fagositosis

Fagositosis merupakan kegiatan sel berupa pencaplokan partikel melalui reseptor yang bersifat spesifik atau non spesifik pada permukaan membran sel dengan cara membentuk gelembung yang berasal dari membran selnya, kemudian terjadi penyatuan gelembung-gelembung (fagosom) dengan gelembung lisosom yang mengandung cairan enzim (Subowo, 2013).

Fagositosis sebagian besar diperankan oleh makrofag sebab kemampuan fagositosisnya jauh lebih kuat dibandingkan dengan sel fagosit yang lain. Segera setelah menelan bahan asing tersebut, membran makrofag akan menutup. Partikel tersebut digerakkan ke dalam sitoplasma sel dan terbentuk vakuol fagosit. Lisosom adalah kantung-kantung dengan enzim, bersatu dengan fagosom membentuk fagolisosom. Pada keadaan ini dimulailah proses pencernaan intraseluler dan pembentukan zat bakterisidal jika lisosom gagal menerima bahan-bahan asing yang masuk ke dalam tubuh. Makrofag jaringan mempunyai kemampuan serupa makrofag aktif yang mampu mengembara ke seluruh jaringan, yaitu memfagosit bahan-bahan asing (Subowo, 2013).

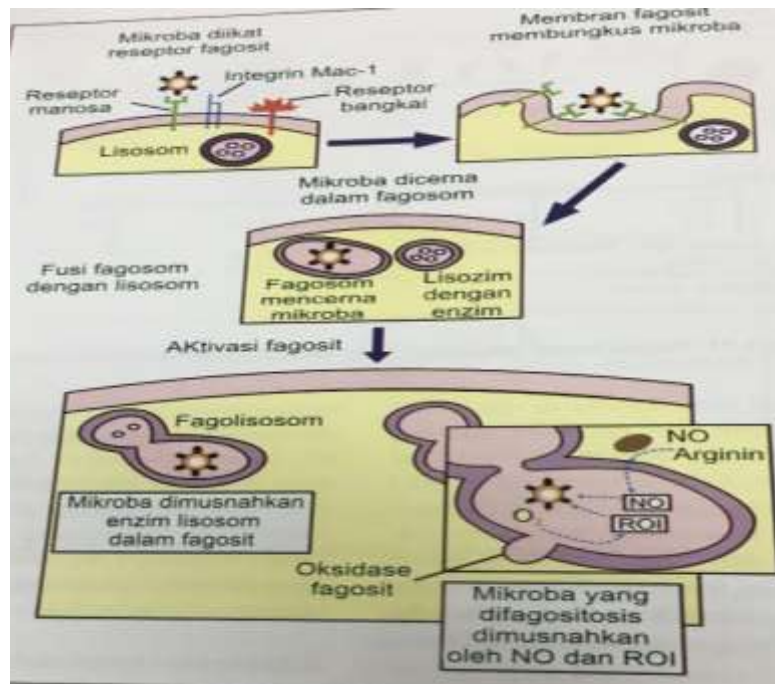
Mekanisme fagositosis adalah sebagai berikut :

- a. Penarikan bakteri (kemotaksis), yaitu suatu rangsangan kimia yang mendorong sel fagosit bergerak ke arah antigen.
- b. Penempelan (attachment) sel fagosit dengan mikroorganisme tersebut. proses ini berlangsung dengan lebih mudah apabila mikroorganisme

terlebih dahulu diselubungi oleh protein serum tertentu yang disebut opsonisasi. Protein yang dapat bertindak sebagai opsonin antara lain komponen protein dari sistem komplemen dan molekul antibodi. Setelah itu sel fagosit akan memanjang membentuk pseudopodia dan mengurung mikroorganisme.

- c. Ingesti, yaitu terbentuknya vesikel intraseluler (fagosom) yang mengandung bakteri atau bahan lain.
- d. Pembentukan kompleks antara fagosom dan lisosom (fagolisosom) yang memungkinkan lisosom melepaskan enzim pencernaan ke dalam sitoplasma sehingga terjadi degradasi molekul bakteri.
- e. Digesti, yaitu pemusnahan mikroorganisme yang terdapat di dalam fagolisosom. Mekanisme penghancuran ini ada dua macam, yaitu tergantung oksigen (peroksidase) dan tidak tergantung oksigen (protease, lipase, dan glikosidase).
- f. Setelah enzim-enzim bekerja membunuh mikroorganisme dalam fagolisosom, maka akan terdapat zat-zat yang tidak dapat diuraikan lagi oleh enzim yang dinamakan residu. Residu ini selanjutnya akan dikeluarkan dari dalam sel fagositik (Baratawidjaja, 2009).

Mekanisme pertahanan dalam infeksi bakteri dapat berkaitan dengan sifat mikroorganisme yang menyerang. Bakteri gram negatif dapat dibunuh dengan antibodi atau melalui aktivitas komplemen. Sedangkan bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dibunuh melalui fagositosis (Subowo, 2013).



Gambar 3. Tahapan fagositosis membunuh mikroba intraselular (Baratawidjaja, 2009)

2.4.4 Limfosit

Sebanyak 30 % dari semua leukosit dalam sirkulasi darah orang dewasa adalah limfosit yang terdiri dari limfosit B dan limfosit T yang merupakan kunci pengontrol sistem imun. Secara morfologik sangat sulit membedakan berbagai sel limfosit, biasanya sel limfosit dapat mengenal benda asing dan membedakannya dari sel jaringan sendiri (Baratawidjaja, 2009).

Sel B merupakan 5 – 25 % dari limfosit dalam darah yang berjumlah sekitar 1000 – 2000 sel/mm³. Terbanyak merupakan limfosit asal sum-sum tulang (hamper 50 %) sisanya berasal dari limfe, dan kurang dari 1 % dari timus. Sel B diproduksi pertama selama fase embrionik dan mengalami pematangan di sum-

sum tulang belakang. Sel B yang telah matang akan bergerak ke organ-organ seperti limpa, kelenjar getah bening dan tonsil (Baratawidjaja, 2009).

Sel T umumnya berperan pada inflamasi, aktivisasi fagositosis makrofag, aktivasi dan proliferasi sel B dalam produk antibodi. Sel T juga berperan dalam pengenalan dan penghancuran sel yang terinfeksi virus. Sel T terdiri atas sel Th yang mengaktifkan makrofag untuk membunuh mikroba dan sel CTL/Tc yang membunuh sel yang terinfeksi mikroba atau virus dan menyingkirkan sumber infeksi (Baratawidjaja, 2009).

2.4.5 Imunomodulator

Imunomodulator adalah berbagai macam bahan baik rekombinan, sintetik maupun alamiah yang merupakan obat-obatan yang digunakan dalam imunoterapi yang dapat mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu (Baratawidjaja, 2009).

Ada dua cara mekanisme kerja dari obat imunomodulator yaitu *up regulation* (menguatkan sistem imun tubuh atau imunostimulasi dan imunorestorasi) dan *down regulation* (menekan reaksi sistem imun yang berlebihan atau immunosupresi) (Baratawidjaja, 2009).

Imunostimulasi adalah cara memperbaiki fungsi sistem imun menggunakan bahan yang merangsang sistem tersebut. Bahan yang dapat menginduksi atau meningkatkan sistem imun disebut dengan imunostimulan, yang diperlukan pada pengobatan penyakit infeksi, imunodefisiensi dan keganasan (kanker). Imunorestorasi adalah suatu cara 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, transplantasi sumsum tulang, jaringan hati, timus, plasmaferesis, dan leukoferesis (Baratawidjaja, 2009).

Imunosupresi merupakan tindakan menekan respon imun. Senyawa yang dapat menekan respon imun disebut dengan imunosupresan. Penekanan sistem imun diperlukan pada beberapa kondisi misalnya transplantasi organ dan penyakit inflamasi yang menimbulkan kerusakan atau gejala sistemik seperti autoimun atau auto inflamasi (Baratawidjaja, 2009).



III. PELAKSANAAN PENELITIAN

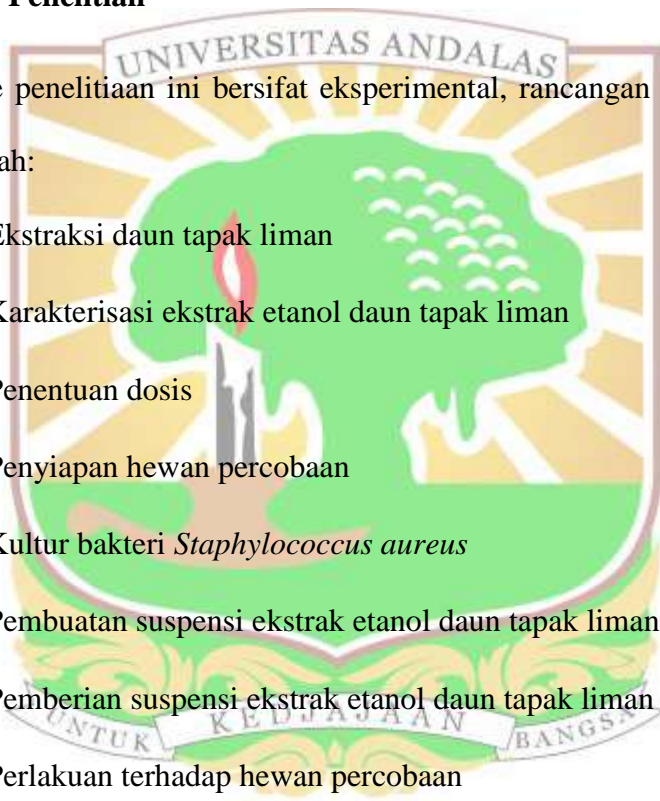
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama \pm 3 bulan di Laboratorium Penelitian dan Laboratorium Imunologi & Serologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian ini bersifat eksperimental, rancangan percobaan yang dilakukan adalah:

1. Ekstraksi daun tapak liman
2. Karakterisasi ekstrak etanol daun tapak liman
3. Penentuan dosis
4. Penyiapan hewan percobaan
5. Kultur bakteri *Staphylococcus aureus*
6. Pembuatan suspensi ekstrak etanol daun tapak liman
7. Pemberian suspensi ekstrak etanol daun tapak liman
8. Perlakuan terhadap hewan percobaan
9. Analisis data



3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan adalah timbangan hewan, botol maserasi, mortir, stamfer, kandang mencit, pipet tetes, beker glass, vial, spatel, sarung tangan, masker, jarum sonde, gunting bedah, kawat, tempat makan dan minum mencit, kertas saring, alat suntik, gelas ukur, timbangan hewan, timbangan analitik, mikroskop (ZEISS), pipet eritrosit, kamar hitung, hemasitometer, kaca objek, jarum ose, tabung reaksi, plat KLT, *rotary evaporator*, jarum suntik, cawan petri, erlenmeyer, inkubator (Memmert), sentrifus (Hettich).

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.), aquadest, serta bahan kimia seperti etanol, metanol, air suling, n-heksan, etil asetat, deoxyelephantophin (PT. Andalas Sitawa Fitolab), bakteri *Staphylococcus aureus* (BPOM Padang), nutrient agar (Merck), nutrient broth (Merck), NaCl fisiologis, Na CMC 0,5 %, pewarna giemsa, dan mencit putih jantan.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pengambilan Sampel

Daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) diperoleh dari daerah Limau Manis, Kota Padang, Sumatera Barat.

3.4.2 Identifikasi Sampel

Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium ANDA, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas Padang

3.4.3 Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Tapak Liman

Serbuk simplisia dibuat dari simplisia segar utuh atau potong-potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan, melalui proses pembuatan serbuk dengan suatu alat dan tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan. Simplisia diayak hingga diperoleh serbuk dengan derajat kehalusan tertentu (Depkes RI, 2008).

3.4.4 Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 1 kg daun tapak liman yang telah digrinder halus, dimaserasi menggunakan etanol. Satu bagian serbuk kering simplisia dimasukkan ke dalam maserator, dan ditambahkan 10 bagian pelarut. Simplisia direndam selama enam jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam, dan disaring. Proses penyarian ini diulangi sebanyak tiga kali. Maserat yang didapat selama tiga kali pengulangan dikumpulkan, kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 2008).

3.4.5 Penentuan Rendemen

Sampel yang telah dibersihkan ditimbang kemudian ekstrak yang diperoleh ditimbang (Depkes RI, 2008).

Rendemen dihitung dengan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh (gram)}}{\text{berat sampel (gram)}} \times 100 \%$$

3.4.6 Skrining Fitokimia

a. Skrining Flavonoid

Sebanyak lebih kurang 1 mg ekstrak ditambah 1 mL etanol 70 %, kemudian ekstrak ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Warna merah atau jingga pada filtrat menunjukkan ada flavonoid (Harborne, 1987).

b. Skrining Fenolik

Sebanyak lebih kurang 1 mg ekstrak ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 5 %. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau hijau biru (Harborne, 1987).

c. Skrining Saponin

Sebanyak lebih kurang 1 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah 2 mL etanol 70 %. Kemudian ekstrak ditambahkan 10 mg air panas, didinginkan, dikocok secara vertical selama 10 detik dan didiamkan selama 10 menit. Jika terbentuk busa setinggi 1 cm yang bertahan selama 15 menit dan tidak hilangnya buih dengan penambahan asam klorida 2 N maka menunjukkan adanya saponin (Harborne, 1987).

d. Skrining Steroid dan Triterpenoid

Sebanyak lebih kurang 100 mg ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 1 mL etanol 70 %. Ekstrak kemudian ditambahkan pereaksi Lieberman Burchard. Terbentuknya warna biru atau hijau positif steroid,

sedangkan terbentuknya warna merah muda atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid (Harborne, 1987).

e. Skrining Alkaloid

Sebanyak lebih kurang 1 mg ekstrak ditambahkan 1,5 mL HCl 2%, dipanaskan sambil dikocok di atas penangas air kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi 2. 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 jingga coklat dengan pereaksi Dragendorff pada masing-masing filtrat (Harborne, 1987).

3.4.7 Karakterisasi Ekstrak

A. Parameter Spesifik

a. Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis meliputi bentuk, warna, rasa, dan bau (Depkes RI, 2008).

b. Profil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Tapak Liman

Ekstrak etanol daun tapak liman dilarutkan dengan metanol kemudian ditotolkan dengan pipet kapiler pada plat aluminium silika gel F254. Fase gerak yang digunakan yaitu fase gerak polar, semipolar, dan nonpolar. Larutan pembanding dan larutan uji ditotolkan dengan jarak 1 cm dari tepi bawah lempeng, dan dibiarkan mengering. Lempeng ditempatkan pada rak penyangga, sehingga tempat penotolan terletak di bawah lalu lempeng dimasukkan ke dalam bejana kromatografi. Fase gerak dalam bejana harus mencapai tepi bawah

lempeng. Tutup bejana diletakkan pada tempatnya dan dibiarkan sistem hingga fase gerak merambat sampai batas jarak rambat. Kemudian lempeg dikeluarkan dan dikeringkan, bercak diamati pada UV panjang gelombang 254 (Depkes RI, 2008). Jarak bercak yang terlihat diamati dan diukur. R_f bercak ditentukan dengan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang di tempuh senyawa}}{\text{Jarak yang di tempuh pelarut}}$$

B. Parameter Non-spesifik

a. Susut Pengerinan

Kurs dipanaskan pada suhu 105° C selama 30 menit dan ditimbang. Sebelum ditimbang ekstrak diratakan dalam kurs dengan cara menggoyangkan kurs hingga terdapat lapisan setebal lebih kurang 5 mm – 10 mm. Ekstrak ditimbang sebanyak 2-3 gram dan dimasukkan kedalam kurs tersebut. Kemudian dipanaskan dalam oven, dalam keadaan tutup terbuka pada suhu 105° C selama 30 menit, dan diulangi hingga bobot tetap. Sebelum penimbangan hasil pengeringan, kurs dibiarkan dalam keadaan tertutup mendingin dalam desikator hingga suhu kamar (Depkes RI, 2008). Lalu kurs ditimbang hingga bobot tetap. Hasil penimbangan dicatat, dan dihitung susut pengeringannya dengan persamaan:

$$\text{Susut pengeringan} = \frac{(w_1-w_0) - (w_2-w_0)}{w_1-w_0} \times 100\%$$

Keterangan : w_0 = Berat kurs kosong

w_1 = Berat kurs + ekstrak

w_2 = Berat kurs + hasil pengeringan

b. Penetapan Kadar Abu Total

Sebanyak 2 gram ekstrak dimasukkan ke dalam krus yang telah dipijarkan dan ditara. Ekstrak diratakan dan dipijar perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan, dan ditimbang. Jika arang tidak dapat hilang, maka ditambahkan air panas, disaring melalui kertas saring bebas abu. Sisa kertas saring dipijarkan di dalam krus yang sama lalu dimasukkan filtrat ke dalam krus, diuapkan dan dipijar hingga bobot tetap, lalu ditimbang (Depkes RI, 2008).

Kadar abu total dihitung 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

3.4.8 Penyiapan Hewan percobaan

Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan umur 2 – 3 bulan dengan berat antara 20 – 30 gram sebanyak 20 ekor, dikelompokkan menjadi 4 kelompok terdiri dari 5 ekor mencit dalam satu kelompok. Sebelum diperlakukan, mencit diaklimatisasi selama 7 hari dengan diberi makan dan minum yang cukup (Vogel, 2002).

3.4.9 Penentuan Dosis

Dosis ekstrak etanol daun tapak liman yang digunakan untuk penelitian ini diberikan dalam 3 varian dosis yaitu dosis 10 mg/kgBB, 30 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB.

3.4.10 Penyiapan Suspensi Ekstrak etanol daun tapak liman

Suspensi Na CMC 0.5 % dibuat dengan cara Na-CMC ditimbang 0.5 gram dikembangkan dengan air panas 20 kalinya lalu ditambahkan aquadest sampai 100 ml, setelah mengembang tambahkan ekstrak dengan konsentrasi yang telah ditentukan (Aldi, *et al.*, 2014).

Konsentrasi ditetapkan berdasarkan rumus:

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis} \times \text{Berat Badan}}{\text{VAO}}$$

3.4.11 Kultur Bakteri

Staphylococcus aureus (SA) dibiakkan pada nutrient agar (NA). Satu ose kultur SA diinokulasi ke dalam media NA baru, setelah itu diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam di dalam inkubator. *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media nutrient agar (NA) dipindahkan ke dalam media nutrient broth (NB), diinkubasi 24 jam pada suhu 37° C, kemudian disentrifugasi 2500 rpm selama 25 menit lalu terbentuk pelet dan disuspensikan dengan NaCl fisiologis 0.9 % yang setara dengan larutan Mc Farland 0.5 (Aldi, *et al.*, 2015).

3.4.12 Pemberian Ekstrak

Mencit sebanyak 20 ekor secara acak dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yang terdiri dari 5 ekor dimana masing-masing kelompok diberikan perlakuan yang berbeda yaitu:

Kelompok I : Mencit diberikan suspensi Na-CMC 0,5 % selama 7 hari.

Kelompok II : Mencit diberikan suspensi ekstrak etanol daun tapak liman dosis 10 mg/kgBB selama 7 hari.

Kelompok III : Mencit diberikan suspensi ekstrak etanol daun tapak liman dosis 30 mg/kgBB selama 7 hari.

Kelompok IV : Mencit diberikan suspensi ekstrak etanol daun tapak liman dosis 100 mg/kgBB selama 7 hari.

3.4.13 Pengujian Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag

Pada hari ke delapan, mencit pada masing-masing kelompok diinfeksi dengan 0,5 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* secara intraperitoneal, kemudian dibiarkan selama 1 jam. Kemudian, mencit dibunuh dan dibedah. Cairan peritoneal diambil dengan menggunakan pipet mikro. Cairan peritoneal tersebut dibuat preparat apus pada kaca objek dan difiksasi dengan metanol absolut selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan Giemsa lalu didiamkan selama 20 menit, dibilas dengan air mengalir dan keringkan. Preparat dilihat dibawah mikroskop cahaya menggunakan minyak emersi pada perbesaran 1000x.

Aktivitas fagositosis sel makrofag ditetapkan berdasarkan jumlah sel fagosit yang aktif melakukan proses fagositosis dalam 100 sel fagosit. Kapasitas

fagositosis sel makrofag ditetapkan berdasarkan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* yang difagositosis oleh 50 sel fagosit aktif (Aldi, *et al.*, 2014).

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

Kapasitas Makrofag = Jumlah bakteri yang difagosit oleh 50 sel makrofag aktif

3.4.14 Menghitung Persentase Sel Leukosit

Pada hari ke delapan, ekor mencit dipotong dan dibuat apusan darah lalu dikeringkan. Setelah kering ditetesi dengan metanol, sehingga melapisi seluruh apusan darah, dibiarkan selama 5 menit. Diwarnai dengan Giemsa dan biarkan selama 20 menit. Cuci dengan air suling, keringkan dan tambahkan minyak emersi dan amati dibawah mikroskop okuler, Dihitung jumlah sel eosinofil, neutrofil batang, neutrofil segmen, limfosit dan monosit pada perbesaran 1000x (Aldi, *et al.*, 2016).

3.4.15 Menghitung Jumlah Sel Leukosit Total

Pada hari ke delapan, darah mencit diambil dan dihisap dengan pipet leukosit sampai angka 0,5 kemudian dihisap larutan truk sampai tanda 11 selanjutnya dikocok selama 3 menit, dari dalam pipet leukosit 1-2 tetes dibuang dan pada kamar hitung hemasitometer ditetaskan satu tetes. Cairan dibiarkan selama 2 menit agar leukosit mengendap. Jumlah leukosit dihitung pada keempat sudut kamar hitung (Hansen, 2000).

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

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik ANOVA satu arah kemudian dilanjutkan dengan analisis Duncan (Usman, 2006).



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

1. Hasil identifikasi sampel daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) menunjukkan sampel yang digunakan adalah tumbuhan tapak liman dengan spesies *Elephantopus scaber* Linn, famili Asteraceae dengan nomor identifikasi 474/K-ID/ANDA/XII/2017 (Lampiran 3).
2. Dari 3,50 kg daun tapak liman segar didapatkan 1,07 kg sampel kering daun tapak liman.
3. Dari hasil ekstraksi 1,07 kg sampel kering daun tapak liman didapatkan 35,30 gr ekstrak kental dengan nilai rendemen 3,30 % (Lampiran 4, tabel I).
4. Hasil uji organoleptis dari ekstrak etanol daun tapak yaitu berbentuk kental, warna coklat kehitaman, tidak berbau dan rasa pahit (Lampiran 4, tabel II).
5. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun tapak liman menunjukkan bahwa positif mengandung senyawa flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin, dan fenolik (Lampiran 4, tabel VI).
6. Hasil pemeriksaan profil KLT ekstrak etanol daun tapak liman didapatkan hasil Rf 0,68 (*Retention factor*) ekstrak adalah sedangkan Rf senyawa pembanding adalah 0,68 (Lampiran 4, tabel VII).
7. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak etanol daun tapak liman adalah 8,67 % (Lampiran 4, tabel III).
8. Hasil penetapan kadar abu total ekstrak etanol daun tapak liman adalah 2,62% (Lampiran 4, tabel IV).

9. Hasil uji pendahuluan untuk menentukan dosis terhadap hewan percobaan didapatkan yaitu kelompok I diberikan suspensi Na CMC 0,5 %; kelompok II diberikan ekstrak dengan dosis 10 mg/kgBB; kelompok III diberikan ekstrak dengan dosis 30 mg/kgBB dan kelompok IV diberikan ekstrak dengan dosis 100 mg/kgBB.

10. Hasil penentuan persentase aktivitas fagositosis pada mencit kelompok I adalah 40,60 %; kelompok II adalah 46,20 %; kelompok III adalah 54 %; kelompok IV adalah 65 % (Lampiran 6, tabel VIII).

11. Hasil penentuan jumlah kapasitas fagositosis pada mencit kelompok I adalah 79; kelompok II adalah 95,80; kelompok III adalah 105,400; kelompok IV adalah 125,80 (Lampiran 6, tabel IX).

12. Hasil perhitungan persentase jumlah sel leukosit darah mencit adalah :
(Lampiran 6, tabel X).

Kelompok I yang diberikan diberikan Na CMC 0,5% :

- a. Neutrofil segmen : 16,40 %
- b. Neutrofil batang : 22,80%
- c. Eosinofil : 7 %
- d. Limfosit : 32 %
- e. Monosit : 20,40 %

Kelompok II yang diberikan ekstrak etanol daun tapak liman dengan dosis 10 mg/kgBB adalah :

- a. Neutrofil segmen : 25,60 %
- b. Neutrofil batang : 20,60 %

- c. Eosinofil : 8,40 %
- d. Limfosit : 34,40 %
- e. Monosit : 11 %

Kelompok III yang diberikan ekstrak etanol daun tapak liman dengan dosis 30 mg/kgBB adalah :

- a. Neutrofil segmen : 25 %
- b. Neutrofil batang : 24,40 %
- c. Eosinofil : 6,80 %
- d. Limfosit : 34,60 %
- e. Monosit : 9,20 %

Kelompok IV yang diberikan ekstrak etanol daun tapak liman dengan dosis 100 mg/kgBB adalah :

- a. Neutrofil segmen : 26 %
- b. Neutrofil batang : 25 %
- c. Eosinofil : 9 %
- d. Limfosit : 36 %
- e. Monosit : 9,40 %



13. Hasil penentuan jumlah sel leukosit total pada darah mencit kelompok I adalah 7.110/ μ L darah; kelompok II adalah 10.790/ μ L darah; kelompok III adalah 12.360/ μ L darah; kelompok IV adalah 15.230/ μ L (Lampiran 6, tabel XI)

14. Hasil uji statistik ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan pada aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag didapatkan hasil yaitu signifikan ($p < 0,05$).
15. Hasil uji statistik ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan pada persentase jumlah sel neutrofil batang, eosinofil dan limfosit didapatkan hasil signifikan ($p > 0,05$). Sedangkan pada monosit dan neutrofil segmen didapatkan hasil signifikan ($p < 0,05$).
16. Hasil uji statistik ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan pada jumlah sel leukosit total didapatkan hasil signifikan ($p < 0,05$).



4.2 Pembahasan

Tumbuhan tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) secara tradisional digunakan sebagai obat diuretik, anti-oksidan, antibakteri, antihepatotoksik, antipiretik, tonik batu ginjal, pengobatan penyakit cacangan dan pengobatan hepatitis (Hammer, 1993; Sheeba, *et al.*, 2012). Penelitian mengenai daun tapak liman terhadap sistem imun masih kurang, sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek dari ekstrak etanol daun tapak liman terhadap sistem imun tubuh. Parameter yang dilakukan pada penelitian ini yaitu aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag, persentase jumlah sel leukosit dan jumlah sel leukosit total pada mencit putih jantan.

Ekstrak etanol daun tapak liman diperoleh dari ekstraksi sampel dengan metoda maserasi. Metoda maserasi dipilih karena prosedur dan peralatannya sederhana serta tidak memerlukan pemanasan sehingga aman digunakan untuk senyawa yang tidak tahan pemanasan (Djamal, 1990). Pada proses maserasi ini digunakan sampel kering yang telah dihaluskan. Penghalusan bertujuan agar sel atau jaringan yang mengandung senyawa aktif mudah dialiri oleh pelarut. Sehingga, zat aktif akan larut dalam jumlah banyak dan akan memaksimalkan proses ekstraksi (Harbone, 1987; Ansel, 1989).

Pelarut yang digunakan adalah etanol 70 % karena bersifat lebih tidak toksik dibandingkan metanol. Etanol merupakan pelarut *universal* yang dapat melarutkan hampir semua zat yang bersifat polar, semi polar maupun non polar. Etanol 70% dipilih karena sampel yang digunakan adalah sampel kering (Depkes RI, 2008).

Proses maserasi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan atau sampai warna maserat menjadi bening dan sesekali diaduk sehingga membantu percepatan difusi zat aktif kedalam pelarut, hal ini dilakukan untuk memperoleh hasil penyarian yang lebih maksimal. Maserasi dilakukan pada tempat yang terlindung dari cahaya untuk mencegah kemungkinan terjadinya kerusakan sebagian senyawa yang kurang stabil terhadap cahaya (Depkes RI, 2000).

Ekstrak kental didapatkan dari proses penguapan maserat menggunakan *rotary evaporator*. Prinsip *rotary evaporator* yaitu pemisahan senyawa aktif dari pelarutnya dengan cara menguapkan pelarut dipercepat dengan pengurangan tekanan udara sehingga, menyebabkan penurunan tekanan uap pelarut dan pelarut akan mendidih dibawah titik didihnya (Hanani, 2014).

Persentase rendemen merupakan perbandingan ekstrak kental yang diperoleh dengan simplisia awal sehingga dapat diketahui kemampuan pelarut menarik zat aktif yang terdapat di dalam sampel. Menurut Farmakope Herbal Indonesia standar persentase rendemen ekstrak etanol daun tapak liman yaitu tidak kurang dari 2,7 % (Depkes RI, 2008), sedangkan persentase rendemen ekstrak yang didapatkan yaitu 3,30 % sehingga dapat disimpulkan bahwa rendemen ekstrak ini telah memenuhi standar yang telah ditetapkan.

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia secara kualitatif ekstrak etanol daun tapak liman mengandung senyawa flavonoid, saponin, fenolik, steroid dan terpenoid. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, senyawa kimia yang terkandung di dalam tumbuhan tapak liman adalah saponin, fenolik, steroid,

terpenoid, tannin, karbohidrat dan protein dan flavonoid 6,20 % (BPOM RI, 2004; Xu, *et al.*, 2006; Geetha, *et al.*, 2011; Kabiru, 2013).

Ekstrak etanol daun tapak liman yang telah didapatkan kemudian dilakukan karakterisasi, yang bertujuan untuk menjamin mutu ekstrak apakah sudah sesuai dengan ketentuan yang telah ditetapkan. Karakterisasi ekstrak meliputi parameter spesifik dan parameter non-spesifik. Parameter spesifik yang dilakukan yaitu pemeriksaan organoleptis dan pemeriksaan profil kromatografi lapis tipis (KLT).

Berdasarkan hasil uji organoleptis ekstrak etanol daun tapak liman didapatkan hasil yaitu ekstrak kental dengan warna cokelat kehitaman, tidak berbau dan rasa pahit. Hasil ini sesuai dengan ketentuan yang terdapat di dalam Farmakope Herbal Indonesia yaitu ekstrak kental dengan warna cokelat kehitaman, tidak berbau dan rasa pahit (Depkes RI, 2008).

Pemeriksaan profil KLT merupakan pengujian secara kualitatif untuk mengetahui apakah ekstrak mengandung senyawa identitas atau pembanding yaitu deoxyelephantopin. Fase gerak yang digunakan yaitu etil asetat: n-Heksan: etil asetat: metanol dengan perbandingan 5:5:1. Fase diam yang digunakan yaitu silika gel F254 dan digunakan penampak noda Lieberman Burchard yang merupakan penampak noda spesifik untuk senyawa steroid dan terpenoid (Harbone, 1987; Depkes RI, 2008). Pada pemeriksaan KLT didapatkan Rf ekstrak dan senyawa pembanding memiliki nilai yang sama yang menandakan bahwa ekstrak mengandung senyawa identitas.

Parameter non-spesifik meliputi susut pengeringan dan kadar abu total. Tujuan dilakukan penentuan susut pengeringan adalah untuk mengetahui batasan maksimal komponen-komponen yang dapat menguap dalam ekstrak dan penentuan kadar abu total bertujuan untuk mengetahui gambaran kandungan mineral internal dan eksternal dari proses awal hingga terbentuknya ekstrak. Hasil penentuan susut pengeringan didapatkan yaitu 8,67 % dan hasil penentuan kadar abu total ekstrak etanol daun tapak liman adalah 2,62 %. Menurut Farmakope Herbal Indonesia standar yang ditetapkan untuk susut pengeringan ekstrak etanol daun tapak liman adalah tidak lebih dari 10 % dan kadar abu total tidak lebih dari 10,30 % (Depkes, 2008). Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa parameter non-spesifik yaitu susut pengeringan dan kadar abu total ekstrak telah sesuai dengan ketentuan pada Farmakope Herbal Indonesia.

Pada penelitian ini digunakan hewan percobaan yaitu mencit putih jantan umur lebih kurang 2 bulan dengan massa 20-30 gram. Untuk mengurangi penyimpangan hasil penelitian, maka dipilih mencit dengan jenis kelamin, usia dan massa relatif sama. Sedangkan alasan penggunaan mencit putih yaitu fisiologis tubuhnya mirip dengan manusia, ukuran tubuh relatif kecil, mudah beradaptasi dengan perubahan yang dilakukan manusia, penanganannya lebih mudah, mudah didapatkan dan harga lebih murah. Selain itu, mencit putih jantan memiliki sistem imun yang lebih stabil daripada betina karena tidak memiliki hormon esterogen (Thompson, 1990; Bratawidjaya, 2009)

Mencit yang akan digunakan diaklimatisasi selama 7 hari, hal ini bertujuan untuk membiasakan hewan uji dengan lingkungannya untuk mencegah terjadinya

stress selama perlakuan. Hewan uji dibagi menjadi empat kelompok, masing-masing terdiri dari lima ekor mencit. Setiap kelompok diberikan perlakuan yang berbeda-beda, yaitu kelompok I diberikan suspensi Na-CMC 0,5%, kelompok II diberikan suspensi ekstrak dengan dosis 10 mg/kgBB, kelompok III diberikan suspensi ekstrak dengan dosis 30 mg/kgBB, dan kelompok IV diberikan suspensi ekstrak dengan dosis 100 mg/kgBB. Dosis ini ditentukan berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya.

Ekstrak etanol daun tapak liman tidak larut sempurna dalam air, sehingga sediaan uji dibuat dalam bentuk suspensi. Zat pensuspensi yang digunakan Na-CMC karena memiliki sifat stabil, tidak mempengaruhi zat aktif, tidak toksik dan tidak mengiritasi (Wade, 1986). Masing-masing kelompok hewan uji diberikan suspensi ekstrak selama tujuh hari, hal ini bertujuan agar zat aktif di dalam ekstrak etanol daun tapak liman dapat memberikan pengaruh terhadap sistem imun hewan uji.

Pada hari kedelapan disuntikkan bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai antigen secara intraperitoneal. *Staphylococcus aureus* dipilih karena makrofag merupakan pertahanan lini pertama yang akan menangkap antigen terutama mikroorganime, sehingga akan melakukan fungsi fagositosis. Selain itu, *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif berwarna chrome dan memiliki aktivitas koagulasi sehingga mudah diamati aktivitasnya dibawah mikroskop (Aldi, *et al.*, 2015).

Penentuan aktivitas dan kapasitas fagositosis dilihat dari makrofag peritoneal yang bersifat fagosit dan kemotaksis (Aldi, *et al.*, 2015). Berdasarkan

hasil uji aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag terdapat kenaikan pada setiap kelompok mencit yang telah diberikan ekstrak etanol daun tapak liman. Kenaikan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag tertinggi terdapat pada kelompok IV yaitu yang diberikan suspensi ekstrak etanol daun tapak liman dengan dosis 100 mg/kgBB.

Uji statistik digunakan untuk mengetahui pengaruh antar variabel. Untuk menentukan analisa yang akan digunakan, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Dari hasil uji normalitas dan homogenitas apabila nilai signifikan ($p > 0,05$) maka pengujian dilanjutkan dengan uji statistik parametrik yaitu uji statistik ANOVA. Apabila dari hasil uji ANOVA didapatkan hasil terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) maka dilakukan uji lanjutan Duncan. Uji lanjutan Duncan dilakukan untuk melihat perbedaan efek antar kelompok perlakuan dan melihat efek terkecil sampai terbesar antara satu kelompok perlakuan dengan yang lainnya (Usman, 2006).

Hasil uji normalitas dan homogenitas aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag didapatkan nilai signifikan ($p > 0,05$) yang menandakan bahwa data normal dan homogen. Selanjutnya pada hasil uji statistik ANOVA satu arah aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag, didapatkan hasil yaitu signifikan ($p < 0,05$) yang menandakan bahwa ekstrak etanol daun tapak liman mempengaruhi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag mencit putih jantan.

Hasil uji lanjutan Duncan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag, didapatkan hasil yaitu setiap kelompok berada pada subset yang berbeda yang menandakan bahwa terdapat perbedaan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel

makrofag antar kelompok uji yang diberikan dosis ekstrak yang berbeda. Kelompok IV memiliki efek terbesar sedangkan kelompok I memiliki efek terkecil. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun tapak liman dapat meningkatkan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag pada mencit putih jantan. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Anitha, *et al.*, 2012 yang menyatakan bahwa kandungan senyawa flavonoid di dalam tumbuhan tapak liman berpotensi sebagai antialergi, antibakteri, antimikroba dan antikanker. Sedangkan senyawa deoxyelephantopin, scabertopin, isoscabertopin, isodeoxyelephantopin di dalam tapak liman berpotensi sebagai antitumor (Xu, *et al.*, 2006; Geetha, *et al.*, 2011).

Penentuan persentase jumlah sel leukosit dilakukan dengan mengamati jenis sel leukosit berdasarkan perbedaan morfologi. Sel leukosit yang diamati yaitu neutrofil batang, neutrofil segmen, eosinofil, limfosit dan monosit. Pewarna giemsa akan melarutkan basofil sehingga tidak bisa teramati dibawah mikroskop (Aldi, *et al.*, 2016).

Hasil penentuan persentase jumlah sel leukosit, persentase sel terbanyak yaitu sel neutrofil dan limfosit, sedangkan jumlah terkecil yaitu eosinofil. Hasil ini sesuai dengan literatur yaitu jumlah limfosit sebanyak 30 % dari seluruh sel leukosit, dan jumlah neutrofil 90 % dari seluruh jumlah granulosit. Sedangkan jumlah eosinofil di dalam darah hanya 2-5 % (Bratawidjaja, 2009).

Hasil uji normalitas dan homogenitas persentase sel leukosit didapatkan nilai signifikan ($p < 0,05$) yang menandakan bahwa data normal dan homogen. Selanjutnya dilakukan uji statistik ANOVA satu arah didapatkan hasil signifikan

($p > 0,05$) pada sel neutrofil batang, eosinofil dan limfosit yang menandakan bahwa ekstrak etanol daun tapak liman tidak mempengaruhi jumlah sel tersebut. Sedangkan pada monosit dan neutrofil segmen didapatkan hasil signifikan ($p < 0,05$) yang berarti ekstrak etanol daun tapak liman mempengaruhi jumlah sel neutrofil segmen dan monosit.

Perubahan jumlah neutrofil segmen dikarenakan neutrofil segmen memiliki fungsi hampir sama dengan makrofag yaitu memberikan respon imun nonspesifik dengan melakukan fagositosis serta membunuh atau menyingkirkan mikroorganisme yang masuk, sehingga apabila mikroorganisme masuk jumlah neutrofil akan meningkat dan melakukan fungsi fagositosis. Sedangkan jumlah monosit berkurang ini dikarenakan sel monosit mengalami diferensiasi menjadi sel makrofag dan menetap di jaringan. Selain sel leukosit, salah satu komponen darah yang juga berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh adalah trombosit. Trombosit berperan penting dalam mengontrol pendarahan atau faktor koagulan dan dapat melawan infeksi virus dan bakteri dengan bantuan sel-sel kekebalan tubuh lainnya (Kresno, 1996; Bratawidjaja, 2009).

Berdasarkan hasil uji lanjutan Duncan neutrofil segmen kelompok I berada pada subset yang berbeda sedangkan kelompok uji lainnya berada pada subset yang sama, yang menandakan bahwa efek pada kelompok I berbeda karena tidak diberikan ekstrak etanol daun tapak liman. Sedangkan pada kelompok lainnya ekstrak etanol daun tapak liman memberikan efek yang sama terhadap jumlah neutrofil segmen. Pada uji lanjutan Duncan monosit kelompok I mempunyai nilai terbesar dibandingkan kelompok lainnya karena berada pada subset yang berbeda.

Pada perhitungan jumlah sel leukosit total terdapat peningkatan yang berbanding lurus dengan peningkatan dosis. Kenaikan jumlah sel leukosit total terbesar terdapat pada mencit kelompok IV. Peningkatan jumlah sel leukosit total menunjukkan bahwa sistem imun semakin membaik (Abbas, *et al.*, 2015). Hasil uji normalitas dan homogenitas jumlah sel leukosit total didapatkan nilai signifikan ($p > 0,05$) yang menandakan bahwa data normal dan homogen. Selanjutnya pada hasil uji statistik ANOVA satu arah menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

Hasil uji lanjutan Duncan jumlah sel leukosit total terlihat bahwa setiap kelompok mencit berada pada subset yang berbeda, yang menandakan terdapat perbedaan jumlah sel leukosit pada setiap kelompok. Berdasarkan hasil uji statistik ANOVA satu arah dan uji lanjutan Duncan jumlah sel leukosit total ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun tapak liman, memiliki efek dapat meningkatkan jumlah sel leukosit total pada mencit putih jantan.

Berdasarkan penelitian efek daun tapak liman terhadap sistem imun yang telah dilakukan dari beberapa parameter uji yaitu, aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag, persentase jumlah sel leukosit dan jumlah sel leukosit total. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun tapak liman dapat meningkatkan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag dan jumlah sel leukosit total serta mempengaruhi persentase sel leukosit. Sehingga dapat disimpulkan bahwa daun tapak liman dapat mempengaruhi sistem imun mencit putih jantan

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* Linn.) dengan dosis 10, 30 dan 100 mg/kgBB dapat meningkatkan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag, jumlah sel leukosit total, jumlah sel neutrofil dan limfosit, tetapi dapat menurunkan jumlah sel monosit.
2. Hasil uji statistik ANOVA dan dilanjutkan dengan uji lanjutan Duncan didapatkan hasil signifikan ($p < 0,05$) yang menandakan bahwa terdapat perbedaan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag dan jumlah sel leukosit total antara kelompok uji mencit yang diberikan ekstrak etanol daun tapak liman dengan kelompok kontrol.
3. Hasil uji statistik ANOVA dan dilanjutkan dengan uji lanjutan Duncan didapatkan hasil pada neutrofil segmen dan monosit yaitu signifikan ($p < 0,05$) yang menandakan bahwa terdapat perbedaan jumlah neutrofil segmen dan monosit antara kelompok uji mencit yang diberikan ekstrak etanol daun tapak liman dengan kelompok kontrol.

5.2 Saran

Peneliti selanjutnya agar dapat meneliti uji efek ekstrak etanol daun tapak liman terhadap sistem imun dengan metoda lainnya yang telah tervalidasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology: Eight edition. Philadelphia: Elsevier-Saunders; 2015.
- Aldi Y, Aria M, Erman L. Uji efek imunostimulasi ekstrak etanol herba ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag pada mencit putih betina. Scientia journal.2014;4(1):38-42.
- Aldi Y, Dewi ON, Uthia R. Uji efek imunomodulator dan jumlah sel leukosit dari ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilium* L.) pada mencit putih jantan. Scientia journal.2016;6(2):2087-5045.
- Aldi Y, Novelin F, Handayani D. Aktivitas beberapa subfraksi herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag. Scientia journal.2015;5(2):2087-5045
- Anitha WT, Marimuthu J, Jeeva S. Anti-bacterial studies on *Hemigraphis colorata* (Blume) H.G Hallier and *Elephantopus scaber* L. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.2012;52-57.
- Ansel HC. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi Ketiga. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 1989.
- Badan Pengawas Obat Dan Makanan RI. Monografi ekstrak tumbuhan obat Indonesia volume 1. Jakarta: BPOM RI; 2004.
- Badan Pengawas Obat Dan Makanan RI. Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup. Jakarta: BPOM RI; 2008.
- Baratawidjaja KG, Rengganis I. Immunologi Dasar, Edisi Kedelapan. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2009.
- Benjamini E, Coico R, Sunshine G. Immunologyn A Short Course, Forth edition. New York: Wiley-Liss, A John Wiley & Sons, Inc; 2000.
- Chairul, Praptiwi, Chairul SM. Phagocytosis effectivity test of Phenylbutenoid compounds isolated from bangle (*Zingiber cassumuar* Roxb.) rhizome. Biodiversitas. 2009;10(1):40-43.
- Chusnie TP, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents. 2005;26:345-356.
- Coligan JE. Current Protocol in Immunology, Supplement 1. Baltimore: John Wiley&Sons Inc; 2010

- Departemen Kesehatan RI. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Edisi 1. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan; 2000.
- Departemen Kesehatan RI. Farmakope Herbal Indonesia. Edisi 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2008.
- Djamal R. Kimia Bahan Alam Prinsip Prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi. Padang : Universitas Baiturrahmah; 1990.
- Geetha BS, Nair MS, Latha PG, Remani P. Sesquiterpene lactones isolated from *Elephantopus scaber* L. inhibits human lymphocyte proliferation and the growth of tumor cell lines and induce apoptosis in vitro. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012;10:1-8.
- Hammer MLA, Emily AJ. Tapping an Amazonian plethora: four medicine plants of Marajo island, para (Brazil). *Journal of Ethnopharmacology*. 1993;40(1):53-75.
- Hanani E. Analisis Fitokimia. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG; 2014.
- Hansen PJ. Laboratory procedures use of Hemacytometer. Florida: University of Florida; 2000.
- Harborne JB. Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Analisa Tumbuhan Edisi Kedua. Bandung: Penerbit ITB; 1987.
- Ho WY, Yeap SK, Ho CL, Raha, AR, Suraini AA, Alitheen NB. *Elephantopus scaber* induces cytotoxicity in MCF-7 human breast cancer cells via p53-induced apoptosis. *Journal of medicinal Plant Research*. 2011;5(24):5741-5749.
- Kabiru A. *Elephantopus scaber*: Traditional uses, Pharmacological actions and chemical composition. *Life science and technology journal*. 2013;15:2224-7181.
- Katno. Tingkat manfaat dan keamanan tanaman obat dan obat tradisional. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada; 2002.
- Kresno, SB. Imunologi:Diagnosis Dan Prosedur Laboratorium, Edisi Ketiga. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universita Indonesia; 1996.
- Listyowati Y, Nurkhasanah. Efek sitotoksik dan pemancuan apoptosis fraksi petroleum eter ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* Linn) terhadap sel HeLa. *Jurnal Farmasi*. 2013;3(2):1-7.
- Paul PHB, Hon PM, Cao H, Dominic CTW, Wu BM, Mak TCW, Chie CT. Sesquiterpene lactones from *Elephantopus scaber*. *Journal Phytochemistry*. 1997;44(1):113-116.

Radji M. *Imunologi dan Virologi Edisi Revisi*. Jakarta: ISFI Penerbitan; 2015.

Sheeba KO, Pallara JW, Bhaskara KL, Rajapogal R, Mukael SL. Antioxidant and antihepatotoxic efficacy of methanolic extract of *Elephantopus scaber* Linn in wistar rats. *Asian Pasific Journal of Tropical Disease*. 2012; s904-s908

Silva LBD, Herath WHM, Jennings RC, Mahendra M, wannigama GE. A new sesquiterpene lactone from *Elephantopus scaber*. *Journal Phytochemistry*. 1982;21(5):1173-1175.

Subowo. *Imunologi Klinik*. Jakarta: Sagung Seto; 2013.

Thompson EP. *Bioscreening of Drug Evaluation Technique & Pharmacology*. New York : Weinhem Basel Cambridge; 1990.

Usman H, Akbar PS. *Pengantar statistic Edisi 2*. Jakarta: Bumi Aksara; 2006.

Vogel HG. *Drug discovery and evaluations pharmacological assays* (2th Edition). Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2002.

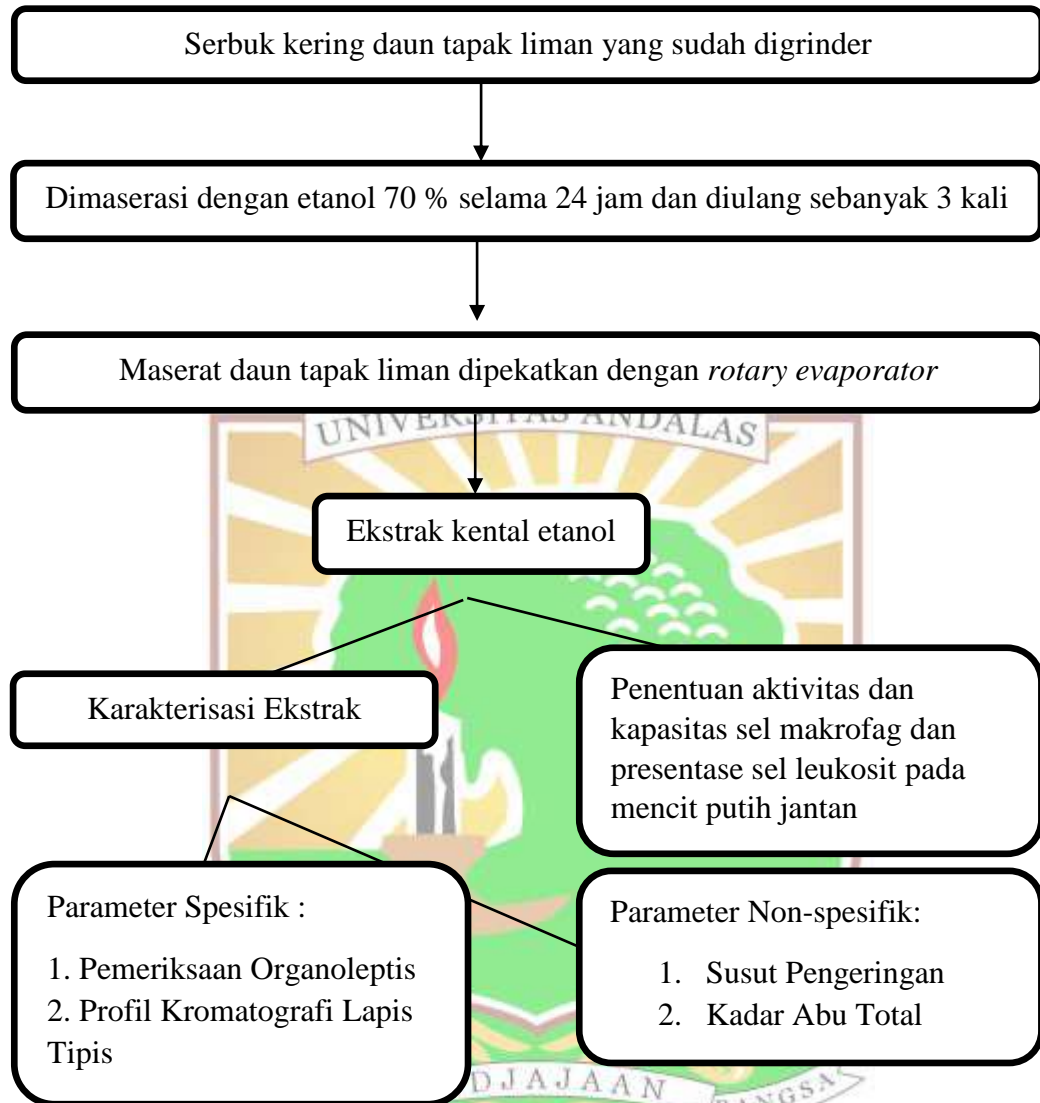
Wade A, Weller P. *Pharmaceutical Excipients Second Edittion*. London: The Pharmaceutical press; 1986.

Wagner, H and Jurcic, K. *Assay for Immunomodulation and Effect on Mediator Of imflamation* London: Academic Press; 1991.

Xu G, Liang Q, Gong Z, Yu W, He S, Xi L., Antitumor Activities of The Four Sesquiterpene Lactones From *Elephantopus scaber* L. *Exp Oncol*. 2006;28(2);106-107.

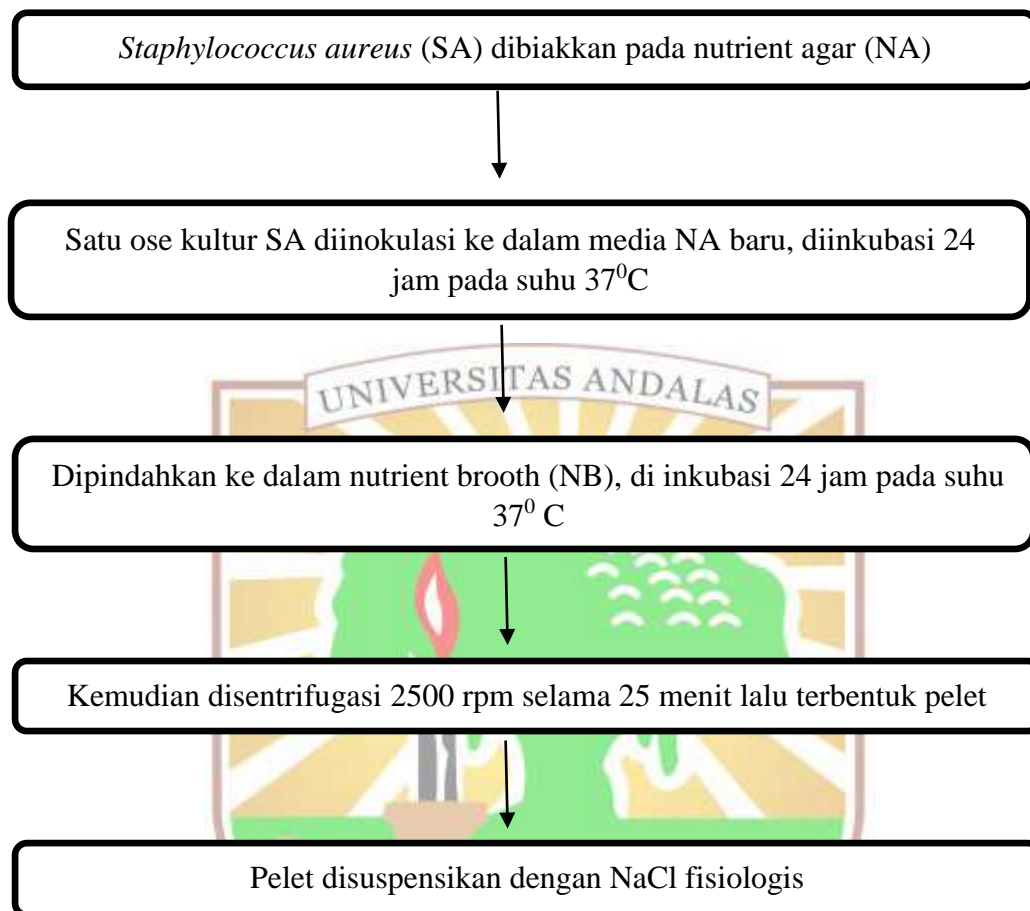


Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian



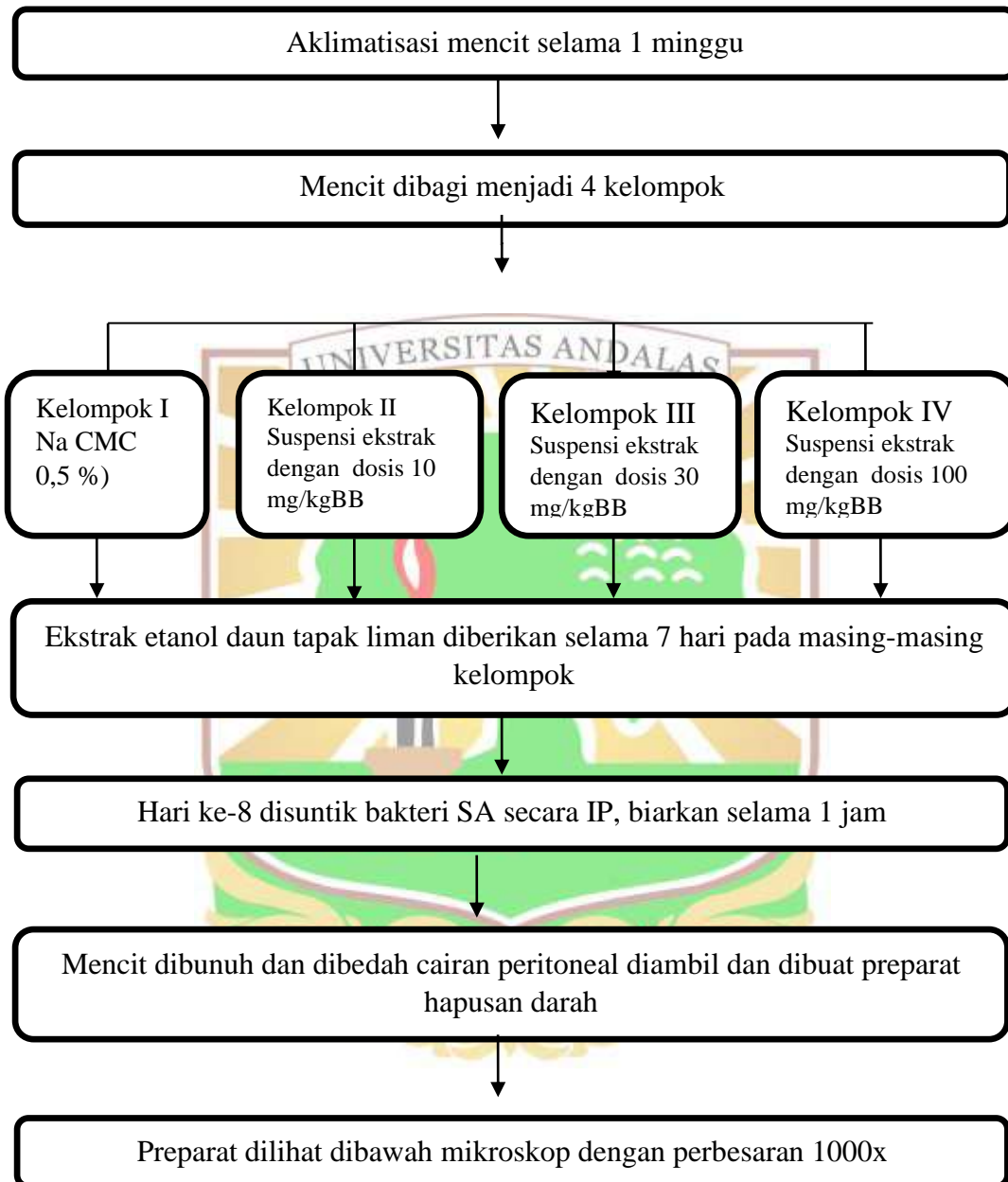
Gambar 4. Skema kerja pembuatan ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.)

Lampiran 1 (lanjutan)



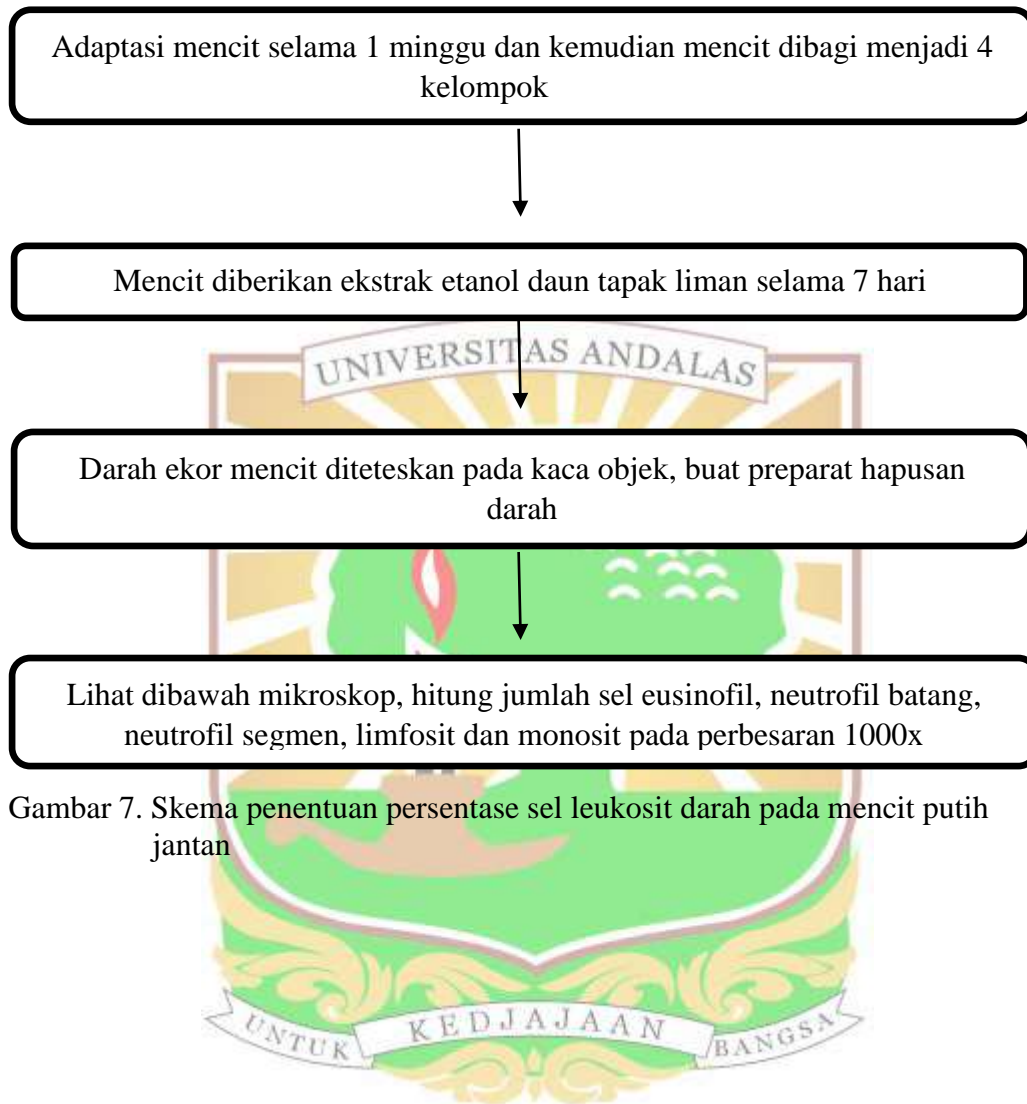
Gambar 5. Skema kultur bakteri *Staphylococcus aureus*

Lampiran 1 (lanjutan)



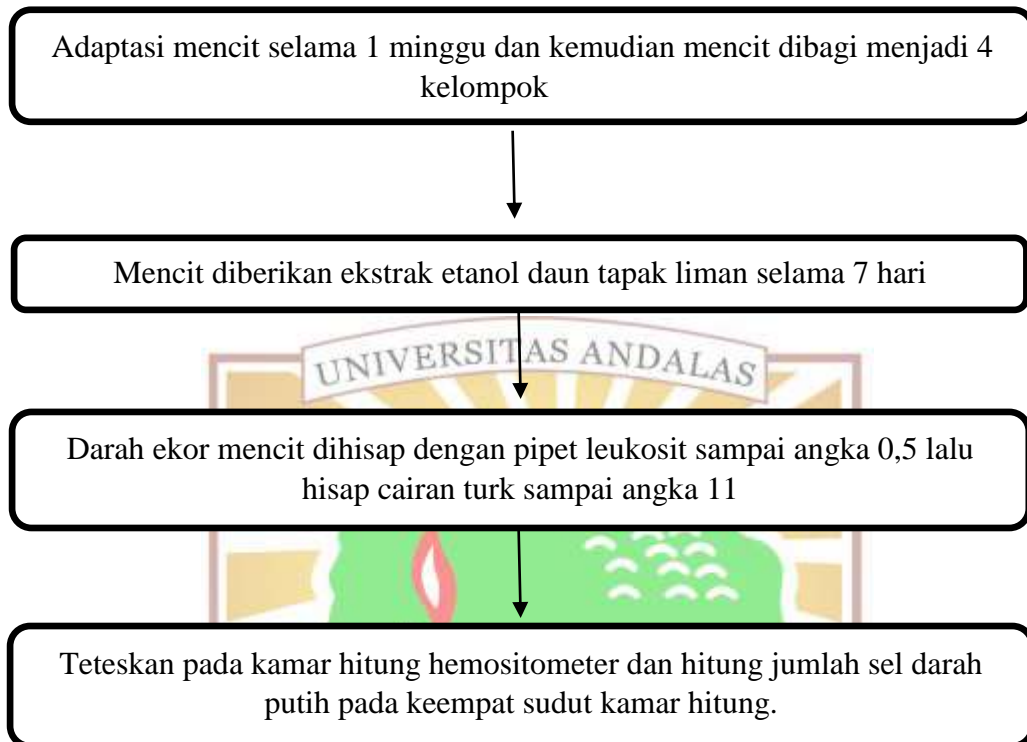
Gambar 6. Skema penentuan aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag peritoneal pada mencit putih jantan.

Lampiran 1 (lanjutan)



Gambar 7. Skema penentuan persentase sel leukosit darah pada mencit putih jantan

Lampiran 1 (lanjutan)



Gambar 8. Skema penentuan jumlah sel leukosit total mencit putih jantan.

Lampiran 2. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik



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

No: 029/KEP/FK/2018

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK **ETHICAL CLEARANCE**

Tim Komite Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, dalam upaya melindungi hak azasi dan kesejahteraan subjek penelitian kedokteran/kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian dengan judul:

The Committee of the Research Ethics of the Faculty of Medicine, Andalas University, with regards of the protection of human rights and welfare in medical/health research, has carefully reviewed the research protocol entitled:

Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Tapak Liman (*Elephantopus Scaber* L) terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag dan Persentase Sel Leukosit Mencit Putih Jantan

Nama Peneliti Utama : Megaraswita S
Name of the Investigator

Nama Institusi : Fakultas Farmasi Universitas Andalas
Name of Institution

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

Padang, 05 Februari 2018

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
Dean of Faculty of Medicine Andalas University

Ketua
Chairperson

Dr. dr. Wirsma Arif Harahap, SpB(K)-Onk
NIP. 1966 1021 199412 1 001



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

Gambar 9. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik

Lampiran 3. Hasil identifikasi herbarium tumbuhan tapak liman

(*Elephantopus scaber* L.)

	HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA) Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumber Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. *811 e-mail: nas_herb@yahoo.com; herbariumandaunand@gmail.com						
Nomor	: 474/K-ID/ANDA/XII/2017						
Lampiran	: -						
Perihal	: Hasil Identifikasi						
Kepada yth, Megaswita S Di Padang							
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	: Megaswita S						
No. BP	: 1411012036						
Instansi	: Farmasi UNAND						
Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.							
<table border="1"><thead><tr><th>No</th><th>Familii</th><th>Spesies</th></tr></thead><tbody><tr><td>1.</td><td>Asteraceae</td><td><i>Elephantopus scaber</i> L.</td></tr></tbody></table>	No	Familii	Spesies	1.	Asteraceae	<i>Elephantopus scaber</i> L.	
No	Familii	Spesies					
1.	Asteraceae	<i>Elephantopus scaber</i> L.					
Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.							
 Padang, 22 Desember 2017 Kepala  Dr. Nurainas, M.Si NIP. 196908141995122001							

Gambar 10. Hasil identifikasi herbarium tumbuhan tapak liman (*Elephantopus scaber* L.)

Lampiran 4. Hasil Karakterisasi ekstrak etanol daun tapak liman

(*Elephantopus scaber* L.)

Tabel I. Rendemen ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.)

Berat sampel (gr)	Berat ekstrak (gr)	% Rendemen
1070	35,30	3,30

Tabel II. Organoleptis ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.)

No	Pemeriksaan organoleptis	Farmakope Herbal Indonesia	Hasil Pengamatan
1	Bentuk	Ekstrak kental	Ekstrak kental
2	Warna	Cokelat kehitaman	Cokelat kehitaman
3	Bau	Tidak berbau	Tidak berbau
4	Rasa	Pahit	Pahit

Tabel III. Susut pengeringan ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.)

Pengulangan	Wo (gr)	W1 (gr)	W2 (gr)	A (%)
1	41,46	43,65	43,43	8,60
2	21,42	23,43	23,25	8,90
3	37,13	39,28	39,10	8,50
Rata rata				8,67
SD				0,21

Tabel IV. Kadar abu total ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.)

Pengulangan	Wo (gr)	W1 (gr)	W2 (gr)	A (%)
1	37,15	39,21	37,20	2,44
2	17,40	19,47	17,46	2,54
3	41,46	43,49	41,52	2,89
Rata rata				2,62
SD				0,23

Tabel V. Karakterisasi ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.)

No	Parameter	Farmakope Herbal Indonesia	Hasil
1	Susut pengeringan	Tidak lebih dari 10%	8,67%
2	Kadar abu total	Tidak lebih dari 10,30%	2,62%
3	Profil KLT	Rf = 0,680	0,68

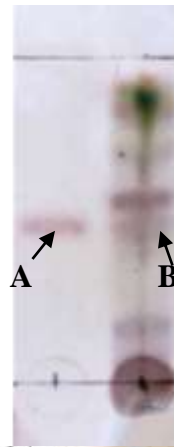
Tabel VI. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.)

No	Skrining	Literatur	Hasil
1	Alkaloid	-	-
2	Fenolik	+	+
3	Saponin	+	+
4	Steroid dan triterpenoid	+	+
5	Flavonoid	+	+

Keterangan : (+) = Mengandung senyawa uji fitokimia
 (-) = Mengandung senyawa uji fitokimia



Profil KLT ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.)



Gambar 11. Profil KLT ekstrak daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) dengan fase gerak n-Heksan:Etil asetat :methanol (5:5:1) dan fase diam silica gel F254 dengan penampak noda Lieberman Burchard.

Keterangan : A = Deoxyelephantopin
 B = Ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.)

Tabel VII. Nilai Rf ekstrak etanol daun tapak liman dan senyawa pembanding (deoxyelephantopin)

	Eluen	Jarak tempuh eluen	Jarak tempuh noda	Rf
Ekstrak	n-Heksan:Etil asetat :methanol (5:5:1)	8 cm	5,44 cm	0,68
Deoxyelephantopin	n-Heksan:Etil asetat :methanol (5:5:1)	8 cm	5,44 cm	0,68

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian



Gambar 12. Tumbuhan tapak liman (*Elephantopus scaber* L.)



Gambar 13. Simplicia daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.)

Lampiran 5. (lanjutan)

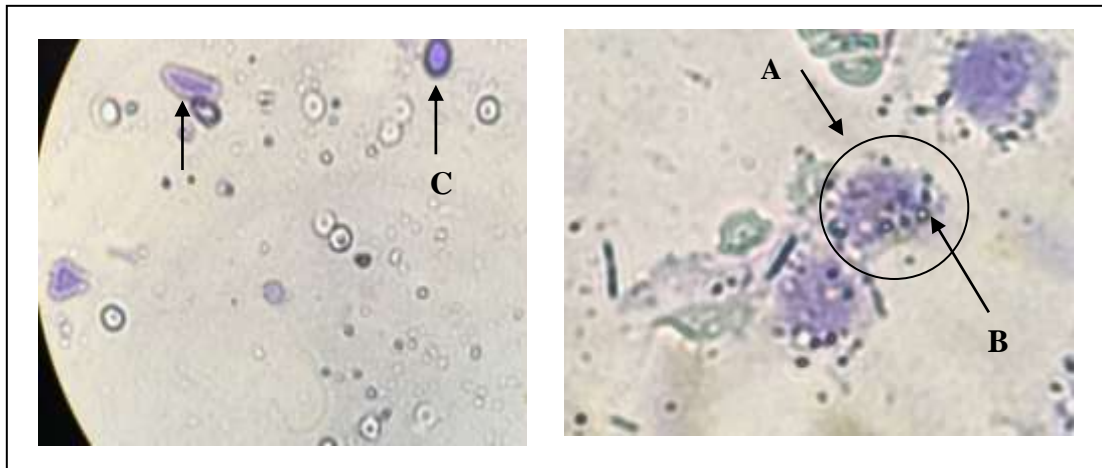


Gambar 14. Cairan peritoneal mencit putih jantan



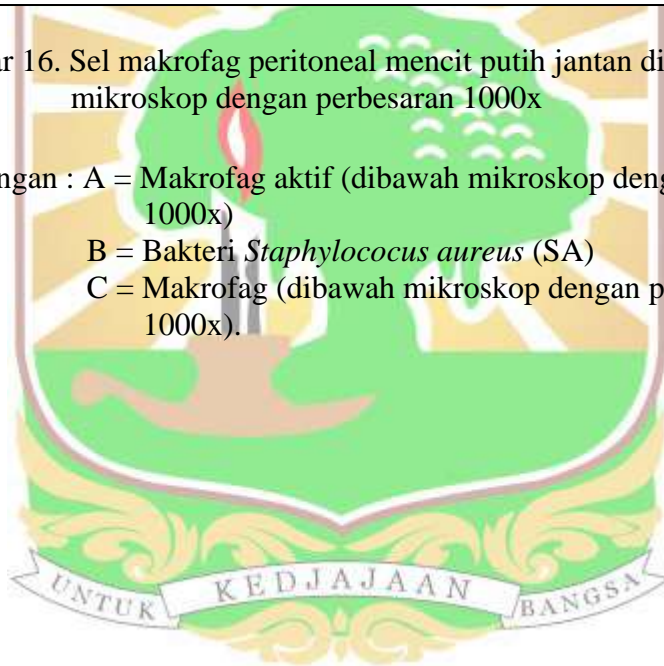
Gambar 15. Sel leukosit pada alat hemasitometer diamati di bawah mikroskop

lampiran 5. (lanjutan)

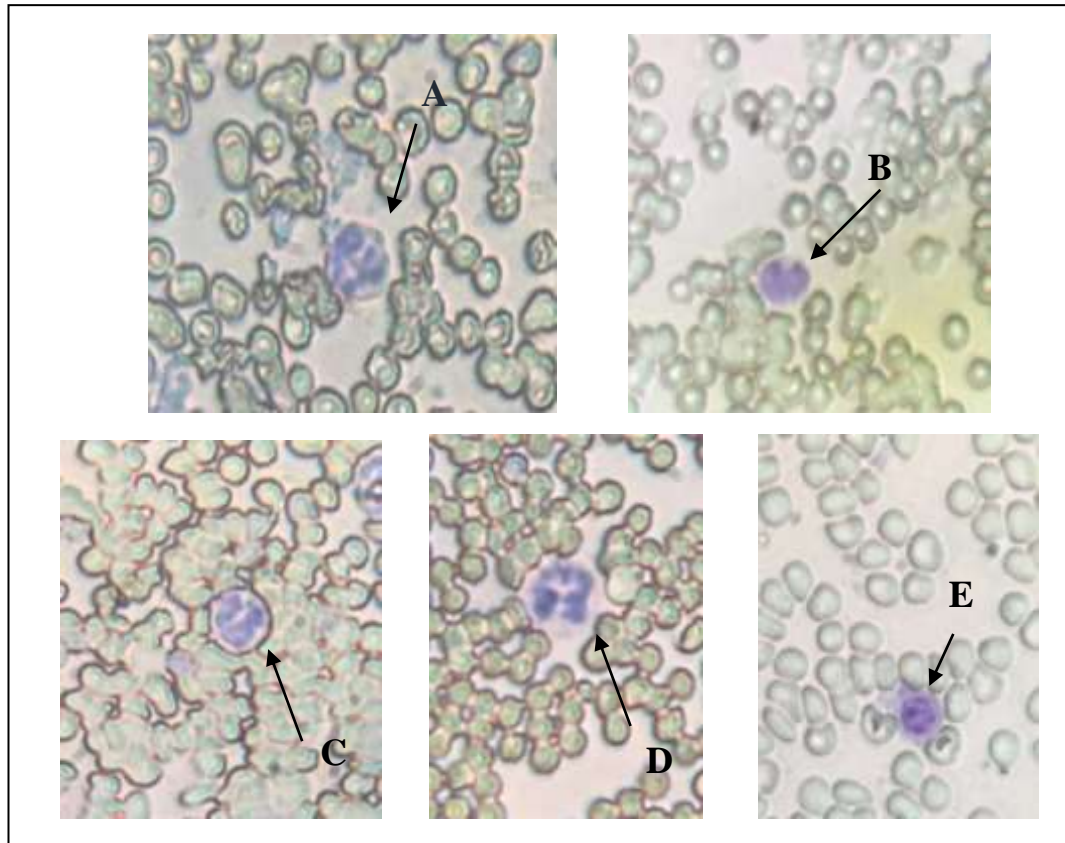


Gambar 16. Sel makrofag peritoneal mencit putih jantan dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x

Keterangan : A = Makrofag aktif (dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x)
B = Bakteri *Staphylococcus aureus* (SA)
C = Makrofag (dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x).

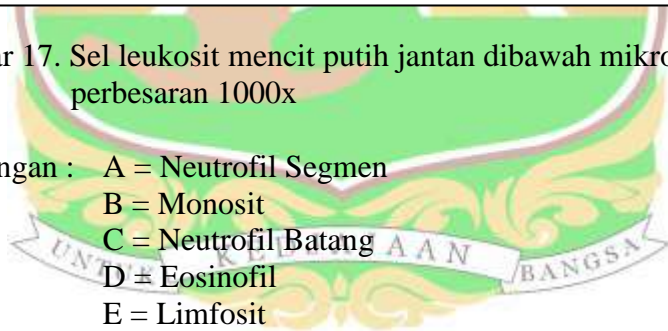


Lampiran 5. (lanjutan)



Gambar 17. Sel leukosit mencit putih jantan dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x

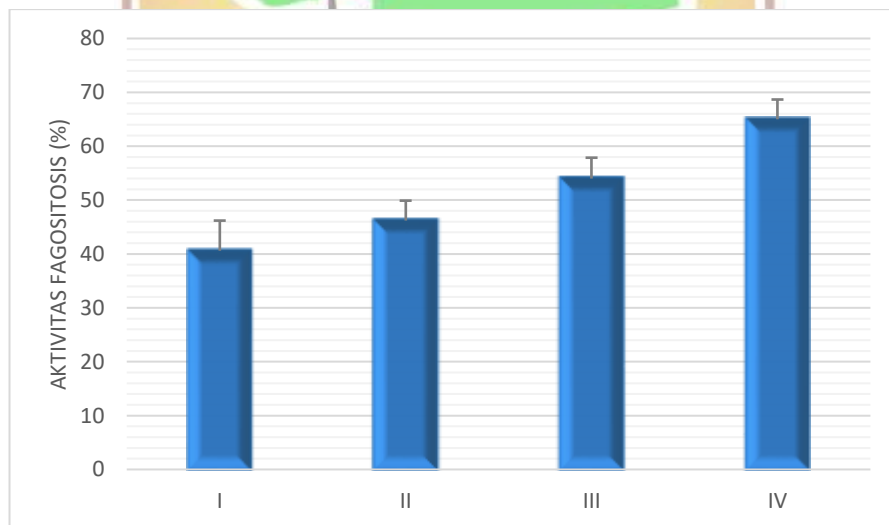
- Keterangan :
- A = Neutrofil Segmen
 - B = Monosit
 - C = Neutrofil Batang
 - D = Eosinofil
 - E = Limfosit



Lampiran 6. Hasil Penelitian.

Tabel VIII. Hasil perhitungan persentase aktivitas fagositosis sel makrofag pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

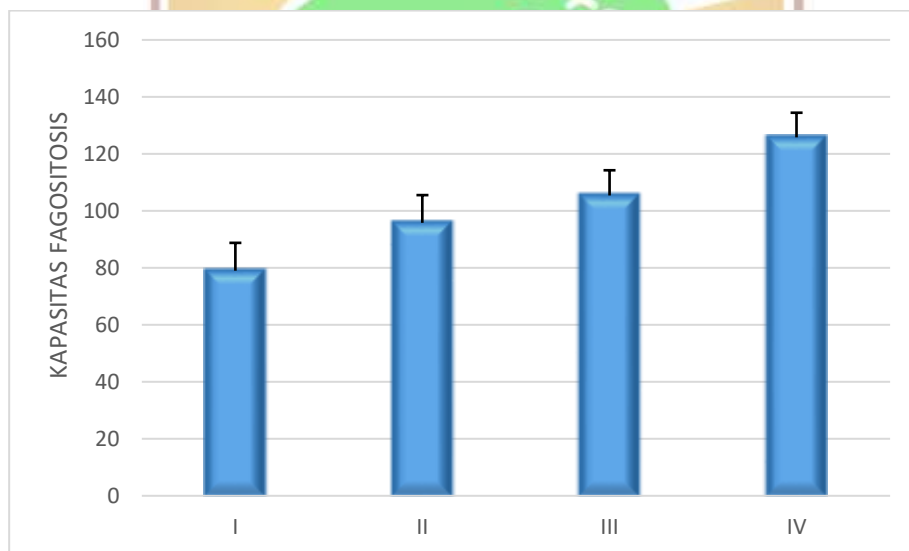
Mencit	Persentase aktivitas fagositosis sel makrofag (%)			
	Kelompok kontrol	Kelompok diberi suspensi ekstrak etanol daun tapak liman (<i>Elephantopus scaber</i> L.)		
		I	II	III
1	47	45	55	68
2	45	42	51	60
3	38	51	57	65
4	40	49	58	69
5	33	44	49	63
Rata-rata	40,60	46,20	54	65
SD	5,59	3,70	3,87	3,67



Gambar 18. Grafik hubungan antara aktivitas fagositosis sel makrofag dengan kelompok mencit setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Tabel IX. Hasil perhitungan kapasitas fagositosis sel makrofag pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Mencit	Kapasitas fagositosis sel makrofag			
	Kelompok kontrol	Kelompok diberi suspensi ekstrak etanol daun tapak liman (<i>Elephantopus scaber</i> L.)		
		I	II	III
1	74	82	117	138
2	95	107	97	127
3	81	93	96	118
4	75	103	109	129
5	70	94	108	117
Rata-rata	79	95,80	105,40	125,80
SD	9,77	9,73	8,85	8,64



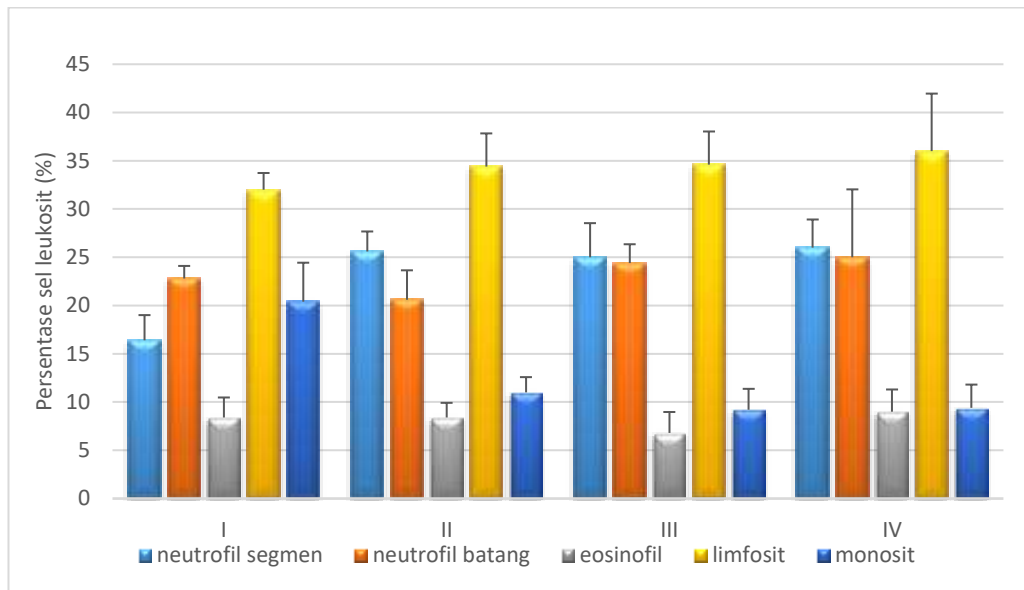
Gambar 19. Grafik hubungan antara kapasitas fagositosis sel makrofag dengan kelompok mencit setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Tabel X. Hasil perhitungan persentase sel leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

	Mencit	Neutrofil segmen (%)	Neutrofil batang (%)	Eosinofil (%)	Limfosit (%)	Monosit (%)
I	1	13	23	6	32	26
	2	19	21	10	31	19
	3	15	24	11	35	15
	4	19	22	8	31	20
	5	16	24	7	31	22
	Rata - rata	16,40	22,80	8,40	32	20,40
	SD	2,60	1,30	2,07	1,73	4,04
II	1	29	17	6	35	13
	2	25	23	10	33	9
	3	24	24	9	31	12
	4	26	21	9	33	11
	5	24	18	8	40	10
	Rata - rata	25,60	20,60	8,40	34,40	11
	SD	2,07	3,05	1,52	3,43	1,58
III	1	31	22	7	33	7
	2	24	25	4	40	7
	3	23	23	10	32	12
	4	22	25	7	36	10
	5	25	27	6	32	10
	Rata - rata	25	24,40	6,80	34,60	9,20
	SD	3,53	1,95	2,17	3,43	2,17
IV	1	23	17	10	44	6
	2	28	27	6	31	8
	3	25	20	10	35	10
	4	24	29	5	30	12
	5	30	12	7	40	11
	Rata-rata	26	25	9	36	9,400
	SD	2,91	7,03	2,30	5,96	2,41

Keterangan : I = NaCMC 0,5%.
II = 10 mg/kgBB.

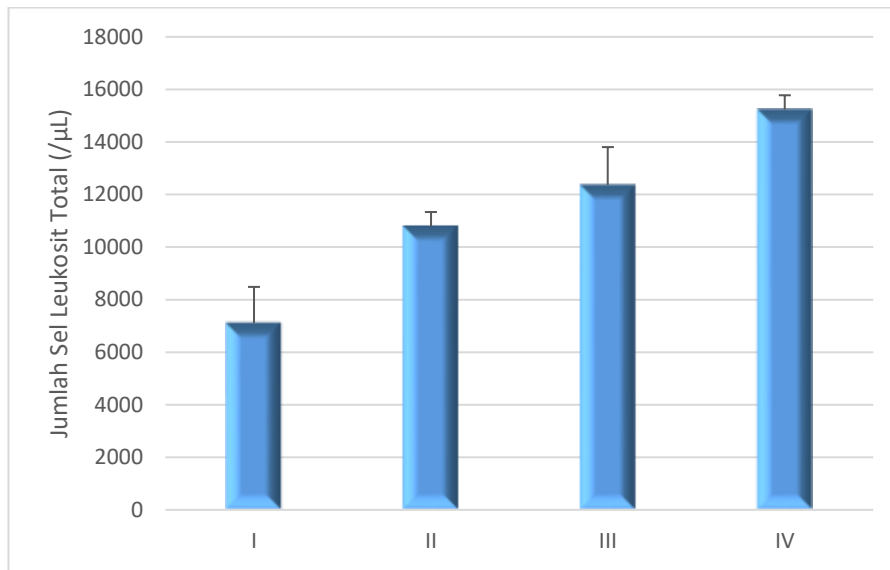
III = 30 mg/kgBB.
IV = 100 mg/kgBB.



Gambar 20. Grafik hubungan antara persentase sel leukosit dengan kelompok mencit setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Tabel XI. Hasil perhitungan jumlah sel leukosit total pada mencit putih jantan Setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Mencit	Leukosit total (μL darah)			
	Kelompok kontrol	Kelompok diberi suspensi ekstrak etanol daun tapak liman (<i>Elephantopus scaber</i> L.)		
	I	II	III	IV
1	6.500	10.500	12.050	16.000
2	8.200	10.800	11.700	15.500
3	8.850	11.550	14.200	15.000
4	6.500	11.000	13.350	14.550
5	5.500	10.100	10.500	15.100
Rata-rata	7.110	10.790	12.360	15.230
SD	1.374,04	543,60	1.445,42	547,26



Gambar 21. Grafik hubungan antara jumlah sel leukosit total dengan kelompok mencit setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.



Lampiran 7. Hasil uji statistik data penelitian.

Tabel XII. Hasil uji normalitas aktivitas fagositosis sel makrofag mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Kelompok	Normalitas		
	Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Sig.
I	0,965	5	0,846
II	0,943	5	0,687
III	0,846	5	0,182
IV	0,957	5	0,787

Tabel XIII. Hasil uji homogenitas aktivitas fagositosis sel makrofag mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Levene statistik	Homogenitas		
	df 1	df 2	Sig.
0,707	3	16	0,562

Tabel XIV. Hasil uji statistik ANOVA satu arah aktivitas fagositosis sel makrofag mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

	ANOVA				
	Nilai total kuadrat	Df	Rata-rata kuadrat	f	Sig.
Antar kelompok	1.676,950	3	558,983	32,172	0,000
Dalam kelompok	278,000	16	17,375		
Total	1954,950	19			

Tabel XV. Hasil uji statistik lanjutan Duncan aktivitas fagositosis sel makrofag mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Kelompok	Jumlah	Duncan			
		Subset			
		1	2	3	4
I	5	40,600			
II	5		46,200		
III	5			54,000	
IV	5				65,000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Tabel XVI. Hasil uji normalitas kapasitas fagositosis sel makrofag mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

kelompok	Normalitas		
	Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Sig.
I	0,877	5	0,297
II	0,956	5	0,780
III	0,969	5	0,868
IV	0,924	5	0,553

Tabel XVII. Hasil uji homogenitas kapasitas fagositosis sel makrofag mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Homogenitas			
Levene statistik	df 1	df 2	Sig.
0,631	3	16	0,606

Tabel XVIII. Hasil uji statistik ANOVA satu arah kapasitas fagositosis sel makrofag mencit putih setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

ANOVA					
	Jumlah kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	f	Sig.
Antar kelompok	5.722,200	3	1907,400	14,852	0,000
Dalam kelompok	2054,800	16	128,425		
Total	7777,000	19			

Tabel XIX. Hasil uji statistik lanjutan Duncan kapasitas fagositosis sel makrofag pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Kelompok	Jumlah	Duncan		
		Subset		
		1	2	3
I	5	79,000		
II	5		95,800	
III	5		105,400	
IV	5			125,800
Sig.		1,000	0,199	1,000

Tabel XX. Hasil uji normalitas persentase sel leukosit mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

kelompok		Normalitas		
		Kolmogrov-Smirnov		
		Statistik	df	Sig.
Neutrofil batang	I	0,141	5	0,200
	II	0,203	5	0,200
	III	0,276	5	0,200
	IV	0,203	5	0,200
Neutrofil segmen	I	0,221	5	0,200
	II	0,224	5	0,200
	III	0,300	5	0,161
	IV	0,235	5	0,200
Neutrofil batang	I	0,261	5	0,200
	II	0,136	5	0,200
	III	0,236	5	0,200
	IV	0,291	5	0,191
Neutrofil batang	I	0,241	5	0,200
	II	0,221	5	0,200
	III	0,227	5	0,200
	IV	0,167	5	0,200
Neutrofil batang	I	0,154	5	0,200
	II	0,208	5	0,200
	III	0,309	5	0,134
	IV	0,189	5	0,200

Tabel XXI. Hasil uji homogenitas persentase sel leukosit mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Homogenitas				
	Levene statistik	df 1	df 2	Sig.
Neutrofil batang	3,952	3	16	0,028
Neutrofil segmen	0,706	3	16	0,562
Eosinofil	0,111	3	16	0,952
Limfosit	0,995	3	16	0,420
Monosit	0,555	3	16	0,652

Tabel XXII. Hasil uji statistik ANOVA satu arah persentase sel leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

ANOVA						
	Kelompok	Jumlah kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Neutrofil batang	Antar kelompok	23,750	3	7,917	0,423	0,739
	Dalam kelompok	299,200	16	18,700		
	Total	322,950	19			
Neutrofil segmen	Antar kelompok	361,350	1	120,450	11,582	0,000
	Dalam kelompok	166,400	16	10,400		
	Total	527,750	19			
Eosinofil	Antar kelompok	5,200	3	1,733	0,465	0,710
	Dalam kelompok	59,600	16	3,725		
	Total	64,800	19			
Limfosit	Antar kelompok	90,550	3	30,183	1,258	0,323
	Dalam kelompok	384,400	16	24,025		
	Total	474,950	19			
Monosit	Antar kelompok	376,550	3	125,517	23,909	0,000
	Dalam kelompok	64,000	16	5,250		
	Total	460,550	19			

Tabel XXIII. Hasil uji statistik lanjutan Duncan neutrofil batang mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Duncan		
Kelompok	Jumlah	Subset
		1
I	5	20,600
II	5	21,000
III	5	21,200
IV	5	23,400
Sig.		0,360

Tabel XXIV. Hasil uji statistik lanjutan Duncan neutrofil segmen mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Kelompok	Jumlah	Duncan	
		Subset 1	Subset 2
I	5	15,400	
II	5		25,000
III	5		25,000
IV	5		25,600
Sig.		1,000	0,784

Tabel XXV. Hasil uji statistik lanjutan Duncan eosinofil mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Kelompok	Jumlah	Duncan	
		Subset 1	Subset 2
III	5	6,8000	
IV	5	7,0000	
I	5	7,8000	
II	5	8,0000	
Sig.			0,379

Tabel XXVI. Hasil uji statistik lanjutan Duncan limfosit mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Kelompok	Jumlah	Duncan	
		Subset 1	Subset 2
I	5	33,200	
III	5	34,800	
II	5	35,200	
IV	5	39,000	
Sig.			0,103

Tabel XXVII. Hasil uji statistik lanjutan Duncan monosit mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Duncan

Kelompok	Jumlah	Subset	
		1	2
IV	5	8,000	
III	5	10,000	
II	5	11,200	
I	5		19,400
Sig.		0,051	1,000

Tabel XXVIII. Hasil uji normalitas jumlah sel leukosit total mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Normalitas

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Sig.
I	0,921	5	0,534
II	0,995	5	0,994
III	0,977	5	0,918
IV	0,982	5	0,943

Tabel XXIX. Hasil uji homogenitas jumlah sel leukosit total mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Homogenitas

Levene statistik	df 1	df 2	Sig.
3,681	3	16	0,034

Tabel XXX. Hasil uji statistik ANOVA satu arah jumlah sel leukosit total mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

ANOVA

	Jumlah kuadrat	Df	Rata-rata kuadrat	f	Sig.
Antar kelompok	171818375,000	3	57272791,670	50,150	0,000
Dalam kelompok	18289000,000	16	1143062,500		
Total	190107375,000	19			

Tabel XXXI. Hasil uji statistik lanjutan Duncan jumlah sel leukosit total mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun tapak liman.

Duncan

Kelompok	Jumlah	Subset			
		1	2	3	4
I	5	7170,000			
II	5		10790,000		
III	5			12360,000	
IV	5				15230,000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

