

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Sungkai (*Peronema canescens*)**

Tanaman sungkai (*Peronema canescens*) disebut sekai, ki sabrang kurus sungkai, atau jati sabrang.

##### **1. Sistematika tumbuhan**

Sistematika tanaman sungkai adalah sebagai berikut :

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

##### **2. Morfologi tumbuhan**

Salah satu tanaman etnobotani *Peronema canescens*, yang berasal dari Indonesia, digunakan sebagai sumber obat tradisional (Latief et al, 2021). Salah satu tumbuhan asli Kalimantan adalah sungkai (*Peronema canescens*) yang merupakan anggota dari famili *Verbenaceae*. Sumatera Barat, Bengkulu, Jambi, Sumatera Selatan, dan Jawa Barat juga merupakan rumah bagi tanaman ini (Khaerudin, 1994).

Sungkai (*Peronema canescens*) merupakan tanaman berkayu yang dapat tumbuh di berbagai jenis tanah dan memiliki diameter hingga 60 sentimeter, tinggi 20 hingga 30 meter, dan batang yang tidak bercabang yaitu sekitar 15 meter. panjang. Tanaman ini banyak tumbuh di hutan sekunder. Sebaliknya, sungai biasanya berkembang di daratan dengan sumber daya air yang melimpah, seperti tepian sungai dan badan air tawar. Dengan curah hujan tahunan rata-rata 2100-2700 mm dan ketinggian 0-600 m dpl, tanaman sungkai dapat tumbuh subur di iklim tropis.

Sungkai (*Peronema canescens*) merupakan tumbuhan yang sebenarnya merupakan tumbuhan liar, namun karena nilai ekonomisnya banyak masyarakat yang membudidayakannya. Tanaman sungkai biasanya ditemukan di kebun, pekarangan, dan hutan. Sungkai juga digunakan sebagai pembatas atau pagar hidup di pekarangan karena tumbuh dengan mudah dan tidak membutuhkan perawatan khusus (Ningsih 2013; Yanarita et al. 2014).

Sungkai adalah tanaman berkayu dengan diameter hingga 60 sentimeter, tinggi 20 hingga 30 meter, dan batang lurus tanpa cabang yang panjangnya sekitar 15 meter. Batangnya berwarna abu-abu atau cokelat dan memiliki alur kecil, alur dangkal, dan serpihan tipis. Kulit luar batang berwarna antara merah muda dan coklat kekuningan. Kayu inti, yang juga dikenal sebagai bagian tengah kayu, memiliki tingkat-tingkat yang berwarna coklat muda. Daun bagian bawah dan dahan memiliki bulu halus. Daun dengan sirip ganjil dan majemuk yang meruncing di ujungnya ditemukan berpasangan atau sendiri-sendiri. Tempatkan bunga dua per dua, dengan sedikit buah di antaranya. Akibat kekurangan asam, akar yang menyebar dangkal tidak dapat bertahan selama lebih dari sepuluh hari (Ningsih 2013).



Gambar 1. Tanaman Sungkai (Dok. pribadi)

### 3. Khasiat sungkai

Kandungan metabolit sekunder pada *Peronema canescens* terbukti berpotensi sebagai bahan terapi pada beberapa penyakit (Ibrahim *et al.*, 2012). Daun dan kulit batang tanaman sungkai adalah bagian yang digunakan sebagai obat. Daun muda dari tanaman Sungkai (*Peronema canescens*), anggota famili Verbenaceae, digunakan untuk mengobati masuk angin, demam, cacingan (kurap), memandikan ibu hamil, dan mencegah sakit gigi. Daun sungkai (*Peronema canescens*) digunakan sebagai obat demam hutan dan demam oleh masyarakat tertentu di Sumatera Selatan dan Lampung (Harmida, 2011). Malaysia juga melakukan hal yang sama, tetapi di sisi lain, infeksi kurap sering diobati (Wuart, 2006). Masyarakat hanya memanfaatkannya sebagai pengobatan, tetapi belum ada penelitian tentang kandungan senyawa bioaktifnya. Hasil *Peronema canescens* potensial dapat digunakan sebagai obat antihiperurisemia.

### 4. Kandungan kimia

Sungkai (*Peronema canescens*) memiliki bagian tanaman dengan kandugankimia masing-masing. Seperti yang ditunjukkan oleh

Ramdenti, *et al.* 2018 Menurut Ibrahim dan Kuncoro (2012), metanol yang diekstraksi dari daun sungkai menunjukkan adanya alkaloid, terpenoid, steroid, dan flavonoid. Selain itu, daun sungkai mengandung fenolik, alkaloid, flavonoid, tanin, dan ekstrak etil asetat.

Daun *Peronema canescens* mengandung flavonoid, yang memainkan peran penting sebagai pigmen merah, biru dan ungu dari banyak tanaman tingkat tinggi (Winkel-Shirley, 2001). Studi oleh Owoyale (2008) menunjukkan bahwa flavonoid memiliki efek antipiretik. Penelitian lain Muharni *et al.*, (2021) telah melaporkan senyawa antikolesterol asam betulinat dari ekstrak daun *Peronema canescens*.

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia nabati mengacu pada seluruh tanaman, bagian tanaman, atau eksudat tanaman. Simplisia nabati tersebut dikeringkan pada suhu tidak lebih dari 60 derajat *celcius* dan biasanya digunakan untuk pengobatan. Eksudat tumbuhan adalah zat yang tiba-tiba muncul dari sel atau zat lain dari tumbuhan yang tidak murni secara kimiawi.

Simplisia pelikan atau mineral adalah bahan mineral atau pelikan yang belum diproses atau telah diproses sedemikian rupa sehingga tetap berupa bahan kimia campuran. Simplisia hewani adalah simplisia yang masih ada dalam bentuk utuh hewan, bagian tubuh hewan, atau zat bermanfaat yang berasa seperti hewan (Materi Medika Indonesia Jilid III, 1979).

### **2. Pengumpulan simplisia**

Tanaman budidaya menggunakan simplisiasi untuk memastikan umur, waktu panen, dan galur (asal, garis generasi) tanaman sama. Simplisia dapat dibuat dari tanaman liar atau ditanam. Perolehan tumbuhan liar secara sederhana akan menghadirkan banyak tantangan dan kesulitan dalam mengontrol variabel dalam jenis tumbuhan, usia, dan tempat berkembangnya (Depkes RI, 2007).

Kadar senyawa aktif dalam simplisia dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk tanaman yang digunakan, umur tanaman atau bagian tanaman yang dipanen, waktu panen, dan lingkungan tempat tanaman tumbuh. Mutu produk yang dihasilkan dari penanganan atau pengolahan simplisia yang tidak tepat dapat menjadi racun atau kurang efektif jika dikonsumsi.

### **3. Pembuatan simplisia**

Pembuatan simplisia terdapat banyak proses. Proses awal yaitu mengumpulkan bahan baku agar memastikan kualitas mutu bahan baku, kemudian dilakukan sortasi basah ialah pemisahan kotoran ataupun bahan asing dari bahan simplisia kemudian melakukan pencucian yang berfungsi membersihkan kotoran yang menempel pada tanaman. Kemudian dilakukan perajangan yang bertujuan memudahkan tahap pengeringan, pengemasan, penyimpanan, serta memperluas permukaan bahan baku. Pengeringan berfungsi mengurangi kandungan air sehingga bahan tidak gampang dihindangi oleh kapang, bakteri serta menghilangkan reaksi enzimatis hingga dapat tersimpan dengan waktu yang panjang, kemudian sortasi kering ialah pemisahan bahan asing dan bahan yang rusak setelah proses pengeringan. Langkah terakhir merupakan pengepakan serta penyimpanan, penyimpanan dilakukan sesuai jenis simplisia (Surya, 2017).

Pemrosesan sederhana membutuhkan pengeringan. Bisa dilakukan secara alami (melalui sinar matahari dan aerasi) atau secara artifisial (melalui oven, uap panas, atau alat lainnya). Beberapa faktor yang harus diperhatikan selama proses pengeringan termasuk suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan. Jika sistem pengeringan sudah sesuai maka wajar untuk menghindari pengerasan permukaan, yaitu kondisi dimana bagian luar bahan sudah kering, namun bagian dalam bahan masih basah.

Bahan simplisia dan cara pengeringan menentukan suhu pengeringan. Sebagian besar bahan sederhana dapat dikeringkan pada suhu di bawah 60°C. Proses pengeringan buatan biasanya menghasilkan simplisia dengan kualitas lebih tinggi karena pengeringan lebih seragam dalam waktu singkat dan tidak terpengaruh oleh cuaca. Proses pengeringan juga dapat dipendekkan menjadi beberapa jam, memberikan campuran dinamis yang stabil, dan kandungan kelembaban bahan dapat dikurangi serendah yang diinginkan (Fahmi *et al.*, 2020).

### **4. Pembuatan ekstrak simplisia**

Proses pertama dalam pembuatan ekstrak adalah pembuatan serbuk simplisia, yang dibuat dengan mengolah simplisia utuh atau diiris halus. Telah dikeringkan dan digiling dengan alat yang tidak menghilangkan senyawa-senyawa penting, kemudian diayak untuk

mencapai tingkat kehalusan tertentu. Tingkat kehalusan serbuk simplisia yaitu serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus, serta sangat halus. Kecuali jika dinyatakan dalam hal apapun, tingkat kehalusan serbuk simplisia bakal pembuatan ekstrak adalah kehalusan serbuk simplisia seperti yang tercantum pada ayakan serta derajat kehalusan serbuk (DepKes RI, 2017). Semakin halus serbuk simplisia maka proses ekstraksi akan semakin efektif dan efisien, dan semakin kompleks teknologi peralatan untuk tahap filtrasi maka proses ini dapat mempengaruhi kualitas ekstrak. Saat peralatan penyerbukan digunakan, akan terjadi pergerakan dan kontak dengan logam, benda keras, dan benda lainnya. Ini akan menghasilkan panas kalori, yang dapat mengubah jumlah senyawa dalam produk.

## C. Ekstrak

### 1. Definisi ekstrak

Ekstraksi ialah suatu proses terjadinya pemisahan senyawa terlarut(*solut*) kedalam pelarut (*solvent*). Senyawa yang memiliki sifat anorganik atau yang disebut dengan senyawa polar bisa terlarut oleh pelarut polar, namun untuk senyawa organik ataupun non-polar bisa terlarut dalam pelarut non-polar. Sifat ini disebut dengan istilah *like dissolve like* (Pecsokdkk.,1976). Ekstrak merupakan sediaan kental didapatkan dari mengekstraksi zat aktif simplisia nabati ataupun simplisia hewan dengan memakai pelarut yang tepat (Depkes RI Dirjen POM, 2000).

Ekstrak kental juga dikenal sebagai *extractum spissum* adalah sediaan yang liat dan tidak dapat dituang yang berada dalam kondisi dingin. Ekstrak ini mengandung air sekitar 30 %. Tingginya airnya menimbulkan sediaan obat tidak stabil dikarenakan terdapat cemaran kuman atau bakteri.

Sediaan simplisia nabati yang dikenal dengan ekstrak cair (*Extractum fluidum*) menggunakan etanol sebagai pelarut, pengawet, atau pelarut sekaligus pengawet. Setiap mililiter ekstrak mengandung zat aktif setara dengan satu gram simplisia yang memenuhi persyaratan, kecuali ditentukan lain dalam setiap monografi. Konsentrat encer (*Extractum behavior*) adalah adonan yang memiliki konsistensi seperti cairan madu dan aliran tanpa masalah. Ekstrak kering juga dikenal sebagai *Extractum siccum*, merupakan sediaan yang mudah dihancurkan dengan tangan dan memiliki konsistensi makanan kering. Ekstrak yang tersisa akan membentuk produk melalui penguapan dan

pengeringan, dengan kadar air tidak lebih dari 5% (Depkes RI, 2014).

## **2. Metode maserasi**

Ekstrak ialah sediaan kental didapat melalui ekstraksi zat aktif simplisia nabati ataupun simplisia hewan memakai solvent yang cocok, Setelah itu, pelarut diuapkan sepenuhnya atau hampir sepenuhnya, dan massa atau bubuk yang tersisa diproses untuk memenuhi standar yang ditentukan. Interaksi ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan teknik yang berbeda seperti maserasi, permeasi, refluks, sokletasi dan penyerapan. Pada umumnya metode perkolasi digunakan untuk mengekstraksi bahan baku obat menjadi ekstrak. Dalam kebanyakan kasus, semua permeate dipusatkan melalui penyulingan di bawah tekanan rendah, yang memungkinkan bahan untuk menjadi sesedikit mungkin hangat (Depkes RI,2020).

Maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar untuk mengekstrak simplisia yang tidak tahan terhadap pemanasan. Pengadukan yang terjadi secara teratur disebut maserasi kinetik. Remaserasi adalah proses penambahan pelarut kembali setelah penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes RI,2000).

Maserasi dilakukan dengan merendam tanaman dengan pelarut dalam bejana tertutup pada suhu kamar selama minimal tiga hari dan mengocokkannya berulang kali hingga semua bagian tanaman yang dapat larut dalam cairan pelarut hancur. Untuk lebih cepat menyeimbangkan konsentrasi bahan ekstraksi di dalam cairan, pengocokan dilakukan. Turunnya perpindahan bahan aktif dapat terjadi selama keadaan diam selama proses maserasi. Pelarut yang digunakan pada umumnya ialah etanol ataupun juga bisa air. Hasil maserasi disaring dan sisa ampasnya dipress untuk memperoleh bagian cairnya saja (Lully,2016).

Kelebihan metode maserasi termasuk menggunakan unit alat yang sederhana, bejana untuk perendaman, biaya operasi yang rendah, proses ekstraksi yang relatif hemat biaya, dan tidak memerlukan pemanasan. Kelemahan metode maserasi adalah zat aktifnya hanya bisa terekstrak 50% dan prosesnya memakan waktu lama beberapa hari sehingga tidak sempurna.

## **3. Pelarut ekstraksi**

Pemilihan cairan pelarut dalam proses ekstraksi harus disesuaikan dengan kelarutan dari simplisia yang ingin diekstraksi sehingga zat aktif dari simplisia tersebut dapat tertarik atau terpisah

dari bahan simplisianya. Faktor utama dalam pemilihan cairan pelarut ialah selektivitas, kemudahan bekerja serta proses cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan, dan keamanannya. Kestabilan zat aktif simplisia adalah sifat penting agar mendapatkan obat yang tepat, oleh sebab itu beragam zat aktif simplisia yang larut didalam air ataupun etanol dikarenakan kepolarannya. Etanol bisa menyesuaikan kestabilan bahan obat terlarut dan tidak mengakibatkan peningkatan pada sel. Sifat etanol bisa menghalangi kerja enzim serta mengendapkan albumin (Voigt, 1994).

Menurut Farmakope Indonesia, pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksi adalah eter, air, etanol-air, dan etanol. Etanol bisa melarutkan alkaloid esensial, flavonoid, steroid, glikosida, curcumin, cumarin, antrakuinon, minyak menguap, dan klorofil. Tannin, saponin, lemak, dan vaselin album sukar larut dalam etanol (Depkes RI, 2000).

## **D. Sistem Imun**

### **1. Definisi sistem imun**

Sistem pertahanan biologis tubuh manusia melindungi tubuh dari serangan radikal bebas, mencegah penyakit. Jika sistem ini berfungsi dengan baik, seseorang akan terhindar dari serangan virus atau bakteri, bahkan dapat mencegah penyakit kanker. Sistem kekebalan mengenali dan menghancurkan zat asing atau sel tidak biasa yang berbahaya bagi tubuh. Sistem kekebalan terdiri dari sekelompok sel, protein, jaringan, dan organ yang bekerja sama untuk melawan bahaya.

Perlindungan tubuh terhadap kombinasi makromolekul dan mikroorganisme asing yang masuk ke dalamnya dikenal sebagai resistensi atau insuseptibilitas. Debu, bakteri, protozoa, serangga, virus, dan parasit lainnya adalah beberapa contoh benda asing yang dapat masuk ke dalam sistem. Reaksi insusceptible adalah reaksi yang dihasilkan oleh koordinasi sel, partikel, dan bahan yang berbeda terhadap benda asing atau antigen yang masuk ke dalam tubuh. Mekanisme fisiologis tubuh untuk mengenali benda asing dan mengeluarkannya untuk dimetabolisme tanpa menyebabkan kerusakan pada jaringannya sendiri semuanya termasuk dalam respon imun. Tidak semua mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh dapat menyebabkan infeksi karena sistem kekebalan tubuh dapat menghilangkan mikroorganisme tersebut sebelum berkembang menjadi penyakit.

Ketika sistem kekebalan terpapar pada zat asing, ia dapat menghasilkan dua jenis respons: respons imun non-spesifik (bawaan) dan respons imun spesifik (diperoleh). Respons spesifik adalah tanggapan tubuh terhadap antigen tertentu, sedangkan respons non-spesifik adalah tanggapan tubuh terhadap zat asing. Di mana tubuh baru-baru ini disajikan ke antigen yang tidak dikenal.

## **2. Mekanisme sistem imun**

Biasanya, antigen akan memulai stimulasi sistem kekebalan selama serangan. Sistem ini akan melindungi tubuh dari serangan berbagai mikroorganisme seperti organisme mikroskopis, infeksi, pertumbuhan dan berbagai penyakit penyebab mikroba. Ketika sistem keamanan tidak bekerja dengan baik, tubuh akan rentan terhadap penyakit. Daya tahan tubuh dipengaruhi oleh beberapa hal, antara lain pola makan, lingkungan, kehidupan sehari-hari, usia, stres, dan hormon. Oleh karena itu, setiap orang dianjurkan untuk menjalani gaya hidup sehat, termasuk makan makanan yang seimbang dan berolahraga secara teratur, untuk menjaga kesehatan.

Sistem imun terbagi menjadi dua jenis, yaitu sistem imun alamiah atau non spesifik dan sistem imun spesifik atau bawaan. Mekanisme sistem imun bawaan adalah untuk mencegah masuknya penyebaran penyakit, tetapi tidak secara khusus menghilangkan atau bahkan sepenuhnya menemukannya dan bersifat spontan, tidak spesifik, dan secara kualitatif tidak berubah, atau kuantitas bahkan setelah paparan berulang terhadap patogen yang sama. Adanya sistem imun alamiah memungkinkan respons imun untuk melindungi tubuh selama 4-5 hari, yang merupakan waktu yang diperlukan untuk mengaktifkan limfosit (imunitas didapat). Sedangkan kekebalan bawaan terjadi jika antibodi satu dipindahkan kepada antibodi yang lain. Mekanisme sistem imun pasif muncul setelah proses mengenal oleh limfosit (clonal selection), yang tergantung pada paparan terhadap patogen sebelumnya serta kerjanya lebih cepat dari kekebalan aktif.

Sel makrofag adalah bagian dari sistem kekebalan nonspesifik. Menurut Harijanto (2000) dan Wijayanti (2000) dalam skripsi Zaitun Awaliah (2016), makrofag bertanggung jawab untuk membunuh kuman dan patogen yang dapat membahayakan tubuh melalui fagositosis langsung dan tak langsung dengan melepas sitokin dan ROI.



### **E. Fagositosis dan Makrofag**

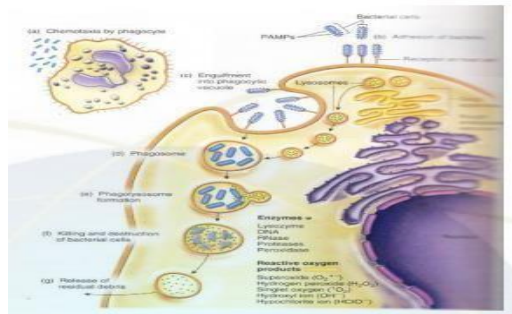
Fagositosis adalah proses atau cara memakan bakteri atau zat asing yang terjadi ketika zat asing atau bakteri tersebut menempel pada permukaan makrofag dan makrofag membentuk sitoplasma dan membengkok ke dalam untuk menyelubungi bakteri atau benda tersebut. Menurut Talaro (2008) dalam skripsi Zaitun (2016) proses fagositosis merupakan bagian dari proses imun non spesifik dan memainkan peran pada pertemuan pertama antara hospes dengan benda asing.

Banyak sel dalam tubuh dapat melakukan fagositosis, tetapi sel mononuklear (monosit dan makrofag) adalah sel pertahanan samar utama. Sel mononuklear juga melawan penyakit bakteri, infeksi, dan parasit intraseluler, dan sel polimorfonuklear atau granulosit melindungi mikroorganisme secara utama. Kedua sel tersebut berasal dari sel asal hemopoietik, yang awalnya berkembang menjadi progenitor limfoid dan myeloid. Leluhur limfoid akan terpisah menjadi sel limfosit T (mikroorganisme sistem imun) dan sel limfosit B (sel B). Leluhur myeloid terpisah menjadi monosit, mastosit atau basofil, granulosit dan megakariosit.

Sistem imun dan komplemen juga terlibat dalam proses sel fagositik. Kuman dapat dibunuh dan dicerna melalui kemotaksis, ditangkap, dimakan, atau fagositosis, atau dibunuh dan dicerna. Taksi Anda adalah pertumbuhan fagosit ke tempat kontaminasi karena berbagai faktor, misalnya, produk bakteri dan bahan biokimia yang dikirim pada penerapan suplemen. Faktor kemotaktik juga dapat dilepaskan dari jaringan yang mati atau rusak. Sel polimorfonukleat tiba di lokasi infeksi dalam dua hingga empat jam, sedangkan monosit bergerak lebih lambat dan membutuhkan tujuh hingga delapan jam untuk mencapai tujuannya.

Proses penghancuran mikroorganisme dapat terjadi karena sel fagosit mengandung zat antimikroba yang berbeda seperti lisosom, hidrogen peroksida dan myloperoksidase. Pencernaan enzim lisosom dari protein sel, polisakarida, lipid, dan asam nukleat adalah tahap akhir fagositosis. Fagositosis dapat ditambah dengan antibodi dan komplemen. Fagosit akan dapat menghancurkan antibodi yang terikat pada antigen lebih cepat. Hal ini disebabkan fagosit memiliki reseptor Fc yang merupakan reseptor ujung karboksil dari molekul antibodi, sedangkan sel komplemen memiliki reseptor C3b yang merupakan

reseptor untuk fragmen komplemen C3b (Baratawidjaja, 1996; Wahab dan Julia, 2002).



**Gambar 2. Mekanisme fagositosis**

Sel fagosit mononuklear utama dalam jaringan yang bertanggung jawab untuk fagositosis mikroorganisme dan molekul asing kompleks lainnya adalah makrofag. Dari sel punca myeloid yang berkembang biak, makrofag diproduksi di sumsum tulang dan dilepaskan ke dalam darah untuk berdiferensiasi menjadi makrofag di berbagai jaringan.

Menurut Sunaryo *et al.* (2007) dalam skripsi Zaitun (2016), selain bertugas membunuh, menghancurkan, dan menghilangkan antigen dari tubuh, makrofag juga berfungsi sebagai sel penghancur antigen (APC). Antigen yang dihancurkan berinteraksi dengan sistem kekebalan tertentu. Makrofag dapat hidup lama, mempunyai beberapa granula dan melepaskan berbagai bahan diantaranya lisozim, komplemen, interferon dan sitokin yang semuanya memberikan kontribusi dalam pertahanan non spesifik dan spesifik. Makrofag sangat ahli dalam melakukan tugasnya untuk menelan dan menghancurkan semua benda menjadi partikel melalui proses fagositosis. Antibodi terkadang mempermudah proses fagositosis karena partikel-partikel yang diselubungi antibody ditelan dengan lebih efisien. Komplemen suatu seri protein serum dalam reaksi berurutan dapat juga terlibat sebagai penguat fagositosis.

## F. Imunomodulator

Zat yang dikenal sebagai imunomodulator membantu mengatur respons sistem kekebalan tubuh seperti sitokin. Tujuannya adalah untuk melindungi sel dari bakteri atau virus yang menyebabkan penyakit. Imunostimulan adalah obat yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh. Menurut Ingrid (2020), imunomodulator adalah zat yang memiliki kemampuan untuk mengubah reaksi sistem kekebalan terhadap antigen

yang ada di dalam dan di luar tubuh serta benda asing yang dapat membahayakan kesehatan. Imunomodulator meliputi menekan respon imun, memperbaiki sistem imun, dan mengembalikan fungsi sel yang terganggu.

Memperkuat sistem kekebalan dengan merangsang atau menormalkan respons imun yang tidak normal adalah fungsi utama imunomodulator. Imunostimulan spesifik terdiri dari dua kategori: imunostimulan spesifik dan non-spesifik. Vaksinasi dan imunostimulan lain dapat memicu respons kekebalan terhadap antigen tertentu. Imunostimulan ini digunakan khusus untuk mengidentifikasi penyakit atau penyebabnya

Obat tambahan yang bertindak sebagai imunomodulator adalah salah satu metode untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Ada banyak jenis imunomodulator yang saat ini ditawarkan sebagai suplemen makanan, terutama yang menggunakan bahan herbal organik. Imunomodulator berbeda dari stimulator imun. Untuk jangka waktu yang lama, imunomodulator dianggap aman untuk penggunaan sehari-hari. Suplemen ini berfungsi untuk meningkatkan dan memperkuat sistem kekebalan tubuh selain menjaga keseimbangan sistem kekebalan tubuh.

Metode uji aktivitas imunomodulator yang dapat digunakan adalah :

1. Metode bersihan karbon (*Carbon clearance*)  
Evaluasi spektrofotometri dari tingkat di mana atom karbon dihilangkan dari darah hewan. Ini adalah proporsi dari gerakan fagositik.
2. Uji granulosit  
Menghitung jumlah sel ragi atau bakteri selama percobaan in vitro. Fraksi granulosit dari serum manusia memfagosit organisme target. Mikroskop digunakan untuk percobaan ini.
3. Bioluminisensi radikal  
Derajat stimulasi yang dicapai ditentukan oleh jumlah radikal O<sub>2</sub> yang dilepaskan akibat kontak mitogen dengan granulosit atau makrofag.
4. Uji transformasi limfosit T  
Sebuah mitogen dimasukkan ke dalam populasi limfosit T yang terisolasi. 3H-timidin akan memasuki asam nukleat 1 limfosit. Jumlah stimulasi dibandingkan dengan fitohemaglutinin A (PHA)

atau concanavalin A (Con A) dapat ditentukan dengan mengukur laju pembentukan (Widianto, 1987).

### G. Metode *Carbon Clearance*

Metode pembersihan karbon menggunakan pengukuran spektrofotometer untuk mengetahui berapa banyak partikel karbon yang dihilangkan dari darah hewan. Ini berfungsi sebagai pengukuran aktivitas fagositosis (Widianto, 1987). Ketika partikel karbon dikeluarkan dari aliran darah, aktivitas fagositik sistem retikuloendotelial dapat diukur. Perbaikan fungsi fagositik makrofag mononuklear dan imunitas nonspesifik ditunjukkan oleh peningkatan indeks penyisihan karbon. Fagositosis makrofag sangat penting terhadap parasit kecil, dan keefektifannya ditandai dengan peningkatan opsonisasi parasit dengan komplemen C3b dan antibodi, yang memulai pembersihan parasit secara cepat dari darah (Ghaisas *et al.*, 2009).

Efek obat pada sistem retikuloendotelial dievaluasi menggunakan uji pembersihan karbon. Kerangka retikuloendotelial (RES) adalah kerangka difus yang terbuat dari sel fagosit. Sel RES berperan penting dalam membersihkan partikel dari sistem sirkulasi. Sebuah persamaan aljabar menggambarkan tingkat di mana makrofag menghilangkan karbon dari darah ketika partikel karbon koloid seperti tinta disuntikkan ke dalam sirkulasi sistemik (Gokhale *et al.*, 2003). Suspensi karbon disuntikkan secara intravena ke hewan percobaan untuk uji penghilangan karbon. Kecepatan penyisihan karbon hewan coba yang diberi sediaan uji dibandingkan dengan hewan coba pada kelompok kontrol untuk menentukan nilai indeks fagositosis. Nilai indeks diketahui melalui perhitungan konstanta fagositosis terlebih dahulu, selanjutnya menentukan nilai indeks fagositosis. Nilai indeks fagositosis antara 1,0 dan 1,2 menunjukkan bahwa sediaan uji tidak memiliki aktivitas kekebalan tubuh; nilai antara 1,3 dan 1,5 menunjukkan aktivitas kekebalan tubuh sedang; dan nilai lebih dari 1,5 menunjukkan aktivitas kekebalan tubuh yang kuat (Wagner dan Jurcic, 1991).

Menurut Fania *et al.*, 2020 perhitungan konstanta fagositosis menggunakan rumus sebagai berikut:

$$K = \frac{\text{Ln OD}_1 - \text{Ln OD}_2}{t_2 - t_1}$$

$OD_1$  merupakan nilai absorbansi pada menit 5,  $OD_2$  merupakan nilai absorbansi pada menit 15. Sedangkan  $t$  adalah waktu yang digunakan saat pengambilan darah mencit yaitu menit 5 dan 15.

Indeks fagositosis dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Indeks fagositosis (IF)} = \frac{\text{Konstanta fagositosis mencit } z}{\text{Konstanta fagositosis mencit kontrol negatif}}$$

Di mana konstanta mencit  $z$  adalah mencit yang telah diperlakukan dan harga konstanta fagositosisnya sudah ditentukan. Konstanta fagositosis mencit kontrol negatif adalah hasil perhitungan konstanta fagositosis pada mencit yang ada pada kontrol negatif.

## H. Leukosit

### 1. Pengertian leukosit

Komponen pembentuk darah dalam istilah medis terdiri dari sel darah merah dan trombosit, sel darah putih atau leukosit. Leukosit, atau sel darah putih, diproduksi oleh jaringan hemopoietik yang membuat darah. Leukosit melakukan beberapa fungsi umum yang sangat berbeda dengan eritrosit, termasuk membantu sistem kekebalan tubuh dalam melawan berbagai penyakit menular, mengangkut makanan dari tempat penyerapan ke seluruh tubuh, dan memindahkan produk limbah ke arah yang berlawanan.

Leukosit terdiri dari sel-sel berdiferensiasi yang melakukan berbagai fungsi. Namun, sel-sel ini berasal dari sel punca yang dapat berdiferensiasi (melalui pematangan) untuk melakukan fungsi tersebut. Ketika zat asing atau mikroorganisme berbahaya masuk ke tubuh manusia, sinyal kimia akan memberi tahu monosit dan mendorong mereka untuk segera bermigrasi dari pembuluh darah ke lokasi serangan.

Sebagai hasil pertahanan mereka terhadap zat asing ini, monosit mengeluarkan zat kimia yang disebut siloxin, yang meningkatkan suhu tubuh. Neutrofil membantu monosit karena mereka tidak dapat berfungsi sendiri. Kerusakan neutrofil sering disebabkan oleh resistensi yang diinduksi oleh monosit dan neutrofil. Neutrofil dikorbankan, tetapi tidak sia-sia karena ketikamati, nanah terbentuk sebagai pertahanan terhadap infeksi sekunder. Setelah benda asing dihilangkan oleh monosit, limfosit yang mencatat zat asing mengangkutnya ke sana. Tujuan limfosit adalah untuk melacak berbagai jenis mikroorganisme

yang dibunuh oleh monosit untuk menciptakan sistem pertahanan (antibodi) terhadapnya di masa mendatang, memungkinkan mereka untuk lebih mudah masuk kembali ke dalam tubuh dan melanjutkan pertempuran.

Dua jenis sel limfosit bekerja untuk tujuan yang berbeda. Sel B bekerja sebagai agen khusus yang melepaskan antibodi untuk melawan kuman yang diketahui dari jarak jauh dan mendeteksi keberadaan kuman. Sel T menjaga atau memantau antibodi untuk memastikan bahwa mereka tetap menempel di permukaan sel dan tetap waspada jika terjadi pertarungan jarak dekat.

## **2. Ciri-ciri leukosit**

Nukleus sel darah putih memiliki, tetapi tidak memiliki bentuk, warna, atau bentuk yang spesifik. Sel darah putih, juga dikenal sebagai leukosit, adalah sel yang membentuk struktur darah. Dalam kondisi normal, satu liter darah manusia dewasa yang sehat mengandung antara 4 dan 11  $10^9$  sel darah putih, atau sekitar 7.000 hingga 25.000 sel per tetes. Leukosit biasanya memiliki ukuran 6-2 milimikron pada usia 12 hari, menjadikannya lebih besar dari eritrosit. Leukosit ini mampu menembus dinding kapiler (diapendens) dan bergerak bebas di dalam amoeboid. Dalam setiap millimeter kubik darah, ada antara 6.000 dan 10.000 sel darah putih, dengan jumlah rata-rata 8.000. Jumlah sel dapat mencapai 50.000 per tetes dalam kasus leukemia. Leukosit normal orang dewasa berkisar antara 4.500 dan 11.000/mikroliter (mL). Hasil yang tidak normal dapat menyebabkan leukositosis (sel darah putih terlalu tinggi) atau leukopeni (sel darah putih terlalu rendah). Jumlah leukosit berkisar antara 0,1-0,2% dari eritrosit. Tubuh tidak selalu membutuhkan leukosit.

## **3. Fungsi dan sifat leukosit**

Enzim yang terdapat pada leukosit mampu menghancurkan dan menghilangkan protein yang berbahaya bagi tubuh. Selain itu, leukosit membantu tubuh dalam produksi antibodi, menawarkan pertahanan yang cepat dan efektif terhadap penyakit, melingkari darah yang terluka atau terinfeksi, dan membuang benda atau bahan lain seperti kotoran, serpihan, dan lain-lain. Mereka juga mempertahankan tubuh melawan mikroorganisme yang menyerang seperti granulosit sel darah putih dan monosit. Leukosit mengangkut zat lemak dari dinding usus ke limpa dan pembuluh darah (Yanrita *et al.*, 2014).

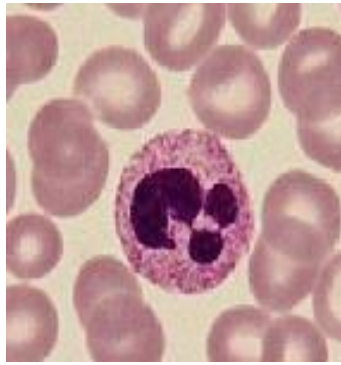
Leukosit memiliki kemostasis, yang berarti mereka tertarik ke area yang mengeluarkan bahan kimia tertentu. Kemudian, pada saat itu,

ada gagasan tentang gerakan amoeboid, dan itu menyiratkan bahwa ia dapat atau dapat bergerak seperti satu sel yang dapat beradaptasi. Selain bersifat amoeboid, fagositosis adalah proses penghancuran benda asing yang masuk ke dalam tubuh, dilakukan oleh monosit dan neutrofil, dan diapedesis adalah kemampuan melewati membran kapiler sehingga dapat melewati pembuluh darah dengan cara mengecil sel (Baratawidjaja *et al.*, 2018).

#### **4. Jenis-jenis leukosit**

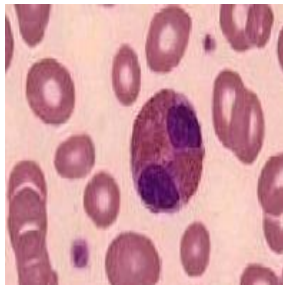
Leukosit memiliki 2 klasifikasi, yaitu granulosit dan agranulosit. Butiran hadir dalam sitoplasma granulosit, juga dikenal sebagai sel darah putih. Eosinofil memiliki butiran berwarna merah cerah, basofil memiliki butiran berwarna biru, dan neutrofil memiliki butiran berwarna ungu pucat. Granulosit adalah jenis sel darah putih yang tidak memiliki sitoplasma granular dan memiliki nukleus dengan hanya satu lobus. Limfosit dan monosit terdiri dari leukosit yang menggabungkan agranulosit; limfosit B membentuk kekebalan humoral dan limfosit T membentuk ketahanan sel. Ketika antigen hadir, limfosit B menghasilkan antibodi, sedangkan limfosit T berasosiasi langsung dengan benda asing untuk difagositosis (Tarwoto, 2007).

**4.1 Neutrofil.** Jenis sel darah putih yang paling umum adalah neutrofil. Leukosit polimorfonuklear adalah subtype sel darah putih berukuran sedang yang melakukan berbagai fungsi di dalam sel, termasuk melakukan neutrofil. Jumlah leukosit yang ditemukan adalah antara 2000 dan 7500 sel/mm<sup>3</sup>, atau 60 dan 70% dari semua leukosit yang bersirkulasi. Neutrofil melapisi dinding pembuluh darah, mencegah bakteri atau infeksi bakteri masuk ke aliran darah melalui luka. Karena sel darah putih yang paling aktif, luka yang terinfeksi akan mengeluarkan banyak nanah. Sel darah putih ini bertugas menghilangkan bakteri dengan "memakan" sel lain, atau fagositosis. Neutrofil berkontribusi pada pelepasan superoksida, yang diubah menjadi asam hipoklorit dan efektif melawan berbagai jenis bakteri, selain memfagositosis bakteri tertentu.



**Gambar 3. Neutrofil Segmen Pewarnaan Giemsa Pembesaran 1000 x  
(Sumber: Adianto,2013)**

Hanya 1-2% leukosit, atau sekitar 40–400 sel per mililiter, yang dibentuk oleh eosinofil. Jumlah ini berubah sepanjang menstruasi. Butiran terdapat pada eosinofil dan membantu sistem kerja sel. Eosinofil juga membantu meningkatkan kekebalan terhadap cacing, infeksi parasit alergi, penyakit kolagen, penyakit limpa, dan penyakit saraf pusat. Ini karena eosinofil mengeluarkan racun dari butirannya, yang membunuh bakteri seperti cacing pita, parasit, dan cacing tambang. Sel darah putih jenis ini jarang ditemukan di dalam darah, tetapi banyak ditemukan di selaput lendir saluran pernapasan, pencernaan, dan saluran kemih bagian bawah.



**Gambar 4. Eosinofil Pewarnaan Giemsa Pembesaran 1000 x  
(Sumber: Adianto, 2013)**

Basofil adalah jenis leukosit paling rendah, membentuk kurang dari 2% dari semua leukosit. Sel ini berukuran sekitar 14 meter, memiliki butiran yang berukuran bervariasi, tersusun tidak beraturan di atas nukleusnya, dan bersifat azrofilik, yang membuatnya terlihat gelap saat diwarnai Giemsa. Granula basofil berwarna ungu atau biru tua, kasar, tersegmentasi sering menutupi inti sel. Histamine, senyawa amina biogenik yang merupakan metabolit dari asam amino histidin, adalah alasan mengapa zat tersebut memiliki warna kebiruan. Jarang basofil muncul dalam darah yang sehat. Heparin, histamin, beradikinin, dan serotonin adalah beberapa zat kimia yang diproduksi selama proses



inflamasi. Menurut Kiswari (2014), reaksi hipersensitivitas terkait imunoglobulin E (IgE) melibatkan basofil.

**4.2 Monosit.** Monosit adalah jenis leukosit terbesar. Mereka berukuran sekitar 18 m, memiliki inti yang padat dan melengkung yang terlihat seperti ginjal atau biji kacang, dan mereka hidup di dalam darah selama 20 hingga 40 jam. Inti biasanya memiliki bentuk yang eksentrik dan lekukan berbentuk tapal kuda yang dalam. Lisosom primer yang terbuat dari butiran azurofil lebih kecil tetapi lebih banyak. Ada retikulum endoplasma kecil. Ada juga ribosom, beberapa poliribosom, dan banyak mitokondria. Daerah indentasi nukleus mengandung mikrofilamen dan mikrotubulus, dan aparatus Golgi berkembang sepenuhnya. Darah, jaringan ikat, dan lubang tubuh semuanya mengandung monosit. Monosit memiliki situs reseptor pada permukaan membrannya dan dikategorikan sebagai mononuklear fagositik (sistem retikuloendotelial) (Effendi, 2003).

**4.3 Limfosit.** Sel darah putih yang dikenal sebagai limfosit diproduksi di sumsum tulang dari garis sel limfoid. Limfosit adalah sel kecil berbentuk bola dengan nukleus besar dan hanya sedikit sitoplasma. Di dalam darah, kepadatan limfosit berkisar antara 1300 sampai 4000 sel/mm<sup>3</sup>. Lebih sering daripada aliran darah, jaringan limfatik mengandung limfosit. Kekebalan humoral adalah bagian dari sistem kekebalan yang berkaitan dengan produksi antibodi. Jenis sel darah putih ini sangat bergantung pada sistem kekebalan dan juga memainkan peran penting dalam kekebalan humoral. Limfosit dibentuk oleh sel B dan sel T, yang melakukan tugas yang berbeda, termasuk mengaktifkan sistem komplemen, menghasilkan antibodi yang dapat berikatan dengan patogen, mencegah invasi patogen, dan meningkatkan kerusakan patogen. Tipe lain dari limfosit terdiferensiasi yang ditemukan di kelenjar timus adalah limfosit T, yang sangat penting untuk sistem kekebalan yang diperantarai sel. Pewarnaan Giemsa tidak dapat membedakan keduanya karena memiliki morfologi yang sama dan memiliki ukuran dan bentuk bola yang sama (12 m). Nukleus menutupi hampir seluruh permukaan sel, hanya menyisakan sedikit ruang untuk sitoplasma (Nugraha, 2015). Akibatnya, hanya ada sedikit sitoplasma. Limfosit B berkembang menjadi sel plasma, yang membuat antibodi, dari sel punca di sumsum tulang tempat mereka pertama kali berkembang. Menurut Febryan (dalam Farieh, 2008), pembelahan dan pematangan sel punca yang berasal dari sumsum tulang di kelenjar

timus menghasilkan perkembangan limfosit T. Limfosit T dilatih untuk membedakan benda asing dan domestik di kelenjar timus. Untuk melakukan tugasnya berkontribusi pada sistem pengawasan kekebalan, limfosit T dewasa keluar dari kelenjar timus dan masuk ke pembuluh getah bening.

## I. Mencit

### 1. Klasifikasi mencit

Klasifikasi *Mus musculus* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Mus
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

### 2. Morfologi mencit

Mencit (*Mus musculus*) adalah anggota kecil dari famili Muridae (tikus- tikusan). Mencit adalah hama rumah tangga biasa karena kecenderungannya untuk bersarang di sudut lemari dan menggigit furnitur dan benda kecil lainnya. Hewan ini dianggap sebagai mamalia terbesar kedua di dunia setelah manusia. Sangat mudah bagi mencit untuk beradaptasi dengan perubahan yang disebabkan oleh manusia. Memang, jumlah hewan liar di hutan mungkin lebih sedikit daripada di kota-kota besar. Melalui proses seleksi, mencit laboratorium (laboratorium) dikembangkan dari tikus. Saat ini, mencit juga dijadikan hewan peliharaan.

Untuk digunakan dalam penelitian, pengujian, dan pendidikan biomedis, sebagian besar mencit diperoleh dari peternak hewan laboratorium. Faktanya, mencit merupakan 70% dari semua hewan yang digunakan dalam penelitian biomedis. Ini telah dikembangkan untuk menggunakan lebih dari 1000 stok dan galur mencit, sertaraturan stok mutan, sebagai model penyakit manusia. Mencit adalah mamalia yang paling lengkap secara genetik karena kelebihanannya, seperti siklus hidup yang relatif singkat, jumlah keturunan per kelahiran yang tinggi, variasi sifat yang tinggi, kemudahan penanganan, serta produksi dan reproduksi, mencit banyak digunakan sebagai hewan laboratorium dalam penelitian biologi pada tahun 1994. Sifat-sifat hewan serupa. misalnya, babi, domba, kambing, dan sapi. Perkembangbiakan yang

cepat, kemudahan pemeliharaan dalam jumlah besar, variasi genetik yang tinggi, dan sifat anatomi dan fisiologis yang terkarakterisasi dengan baik hanyalah sebagian kecil dari keunggulan mencit, menurut Malole dan Pramono pada tahun 1989 dalam buku penggunaan hewan-hewan percobaan di laboratorium.

Mencit yang digunakan adalah hasil budidaya selektif mencit liar. Mencit yang hidup di alam liar memiliki kulit berpigmen, mata hitam, bulu abu-abu, dan perut agak pucat. Berat badan sebagian besar berfluktuasi dan pada usia empat tahun berat badan minggu mencapai 10-18 g. Mencit fasilitas penelitian memiliki berat badan yang cukup mirip dengan mencit liar, dan sebagian besar berwarna putih dalam varietas dengan banyak galur dan beban tubuh yang berbeda (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Mencit adalah hewan yang lebih pendek dan lebih kecil. mencit hanya memiliki panjang 12 hingga 20 sentimeter dari ujung ekor hingga mulutnya. Oleh karena itu ukuran kandang tidak perlu berlebihan untuk perawatan dan makanan. mencit memiliki proses produksi ekonomi yang panjang yang berlangsung selama sembilan bulan, setelah itu masa kehamilan berlangsung antara 19 dan 21 hari. Selain itu, perkawinan dapat terjadi antara satu hingga dua puluh empat jam setelah lahir. Sedangkan pada mencit sebenarnya membutuhkan proses pembuatan yang efisien selama 1 tahun, dengan jam kehamilan sekitar 20-22 hari. Dalam hal kawin dalam satu hingga 24 jam setelah memiliki anak yang sama.

Menurut Malole dan Pramono pada tahun 1989 dalam buku penggunaan hewan-hewan percobaan di laboratorium, suhu tubuh normal *M. musculus* berkisar antara 36,5<sup>o</sup>C sampai 38,0<sup>o</sup>C. Dalam penelitian ini, *M. musculus* jantan digunakan karena pada saat estrus tidak terjadi perubahan hormon seperti pada *M. musculus* betina. Akibatnya, pelepasan progesteron dapat menyebabkan suhu tubuh *M. musculus* naik 0,3–0,6 °C dari suhu awalnya. selama ovulasi dan membentuk 11 pertahanan homeostatis yang dikontrol hipotalamus terhadap sekresi hormon (Syiafuddin, 2009).



**Gambar 5. Mencit (Priyambodo, 1995)**

## J. Obat X

Obat X ini merupakan suplemen herbal. Studi klinis telah menunjukkan bahwa suplemen herbal ini juga dikenal sebagai imunomodulator yang efektif menjaga atau meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri*) adalah bahan penyusun suplemen ini. Phyllanthin, hypophyllanthin, lignan, glikosida, tanin, alkaloid, ellagitannin, triterpen, steroid, asam ricinolate, nirurisida, phyltetralin, dan fenilpropanoid adalah beberapa dari banyak zat bioaktif yang ada dalam meniran. Meniran adalah antiinflamasi, antitumor, dan antioksidan yang digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati hipoglikemia, batu ginjal, penyakit hati, hipertensi, dan kasus diuretik (Narendra *et al.*, 2012).

Setiap penelitian menjelaskan manfaat klinis *Phyllanthus niruri* sebagai imunomodulator yang meningkatkan dan mengaktifkan sistem kekebalan seluler. Limfosit T dan B, neutrofil, makrofag, atau monosit semuanya secara khusus distimulasi oleh *Phyllanthus niruri*. Temuan ini sangat mendukung respons pertahanan sistem kekebalan seluler oleh tubuh kita terhadap patogen eksternal. *Phyllanthus niruri* belum menunjukkan toksisitas atau efek samping yang parah dalam studi mana pun yang telah dipublikasikan selama 20 tahun terakhir. Dengan demikian, *Phyllanthus niruri* menjadi lebih dikenal di seluruh dunia sebagai obat herbal yang efektif dan aman untuk berbagai penyakit menular (Tjandrawinata *et al.*, 2017).

## K. Landasan Teori

Imunomodulator adalah obat yang dapat memulihkan dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh yang fungsinya terganggu. Fungsi imunomodulator adalah untuk memperbaiki sistem kekebalan dengan merangsang (imunostimulan) atau menghambat/menormalkan respon imun abnormal (imunosupresan). Imunostimulator meliputi dua kelompok, yaitu imunostimulan biologis dan imunostimulan dan sintesis. Imunostimulan sintetik termasuk levamisol, isoprinosine, dan muramil peptidase. Sitokin, antibodi monoklonal, jamur, dan tanaman obat (herbal) adalah imunostimulan biologis. Beberapa bahan alami yang mampu memberi efek imunitas yaitu salah satunya daun sungkai (*Peronema canescens*). Senyawa peronemin, yang termasuk dalam golongan diterpenoid, dapat ditemukan dalam daun sungkai, termasuk tipe peronemin A2, A3, B1, B2, B3, C1, dan D1 (Kitagawa *et al.*, 1994).

Di antara bahan aktif tanaman sungkai yang meningkatkan sistem kekebalan tubuh adalah flavonoid, alkaloid, steroid, dan golongan tanin. Komponen-komponen ini memiliki kemampuan untuk memerangi infeksi virus, bakteri, dan mikroba serta meningkatkan jumlah leukosit.

Penelitian yang dilakukan Theresa (2021) dari hasil penelitiannya daun sungkai (*Peronema canescens*) memiliki potensi imunitas. Maserasi ekstrak daun sungkai muda, yang kemudian diekstraksi dengan pelarut alkohol 96%. Hasil maserasi filtrat dipekatkan dengan cara diuapkan untuk mendapatkan konsentrat kental daun sungkai muda. Ekstrak daun didinginkan dan siap diberikan kepada mencit atau disimpan (Harborne, 1996).

Sebelum digunakan pada manusia, obat atau zat uji harus diuji *in vivo* pada bahan hidup, seperti kultur jaringan dan garis sel. Namun, karena makhluk uji memiliki nilai di semua bagian tubuhnya dan terdapat hubungan antara bagian-bagian tersebut, mereka diharapkan untuk mengamati, mempelajari, dan menentukan hampir semua waktu pada makhluk hidup secara keseluruhan (Ridwan, 2013).

Sebanyak 25 ekor mencit jantan galur Swiss Webster, berumur 7-8 minggu, dengan berat badan berkisar antara 20 hingga 30 g, dijadikan sebagai hewan uji penelitian. Setelah itu, mereka dibagi menjadi lima kelompok perlakuan: kelompok kontrol tanpa obat (air), kelompok kontrol obat dan kelompok perlakuan dengan tiga variasi dosis. Dosis yang menghasilkan efek yaitu 75 mg/Kg BB. Perlakuan secara oral satu kali sehari. Langkah selanjutnya menghitung total leukosit, persentase jenis sel leukosit neutrofil, monosit, dan limfosit, serta aktivitas fagositosis makrofag dengan mengambil darah dari ekor mencit dan mengamati fagositosis makrofag menggunakan metode *carbon clearance*. Informasi yang didapat dianalisis menggunakan tabel ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Duncan (Theresa, 2021).

Dari pernyataan di atas peneliti berencana membuat tiga macam dosis bertingkat baru, yaitu 50 mg/KgBB, 75 mg/KgBB dan 100 mg/KgBB dengan menggunakan metode bersihan karbon. Agar terlihat apakah dengan rentang dosis yang baru akan memiliki aktivitas imunomodulator terhadap jumlah leukosit, persentase jenis sel leukosit dan aktivitas fagositosis makrofag.

### **L. Hipotesis**

Berdasarkan penjabaran landasan teori di atas, maka dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

1. Ekstrak daun sungkai memiliki efek imunostimulan dalam meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag dengan metode bersihan karbon, total sel leukosit dan persentase jenis sel leukosit.
2. Pada penelitian Theresa (2021) untuk pengujian parameter aktivitas fagositosis sel makrofag, total sel leukosit dan persentase jenis sel leukosit pemberian dosis 75 mg/KgBB adalah dosis efektif untuk memberikan efek imunostimulan.