

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KESAMBI
(*Schleichera oleosa* (Lour.) Oken) TERHADAP JUMLAH
LEUKOSIT, INDEKS ORGAN LIMPA, DAN TIMUS PADA
MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L)**



Rani Anastasya Masu

31180193

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS BIOTEKNOLOGI
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA
2023**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KESAMBI (*Schleichera oleosa*
(Lour.) Oken) TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT, INDEKS ORGAN LIMPA,
DAN TIMUS PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus L*)**

PROPOSAL SKRIPSI

Diajukan Kepada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



Rani Anastasya Masu

31180193

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rani Anastasya Masu
NIM : 31180193
Program studi : Biologi
Fakultas : Bioteknologi
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*None-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KESAMBI (*Schleichera oleosa* (Lour.) Oken) TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT, INDEKS ORGAN LIMPA, DAN TIMUS PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L)

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta
Pada Tanggal : 3 Juli 2023

Yang menyatakan



(Rani Anastasya Masu)
NIM. 31180193

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Skripsi dengan judul :

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KESAMBI (*Schleichera oleosa* (Lour) Oken) TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT INDEKS ORGAN LIMPA, DAN TIMUS PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L)

Telah diajukan dan dipertahankan oleh :

RANI ANASTASYA MASU

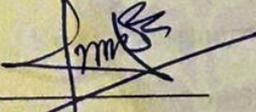
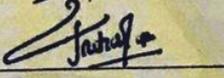
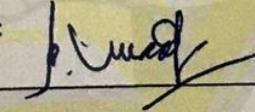
31180193

dalam ujian skripsi Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan **DITERIMA** untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada tanggal 22 Desember 2022

Nama Dosen	Tanda Tangan
1. Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si (Ketua Tim Penguji)	: 
2. drh. Vinsa Cantya Prakasita, SKH, M.Sc (Dosen Pembimbing I/ Tim Penguji)	: 
3. Kukuh Madyaningrana S.Si., M.Biotech (Dosen Pembimbing II/ Tim Penguji)	: 

Yogyakarta, 9 Februari 2023

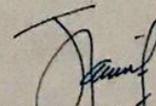
Disahkan oleh :

Dekan

Ketua Program Studi



Dr. Dhira Satwika, M.Sc.



Dwi Aditiyarini S.Si., M.Biotech., M.Sc.

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kesambi
(*Schleichera oleosa* (Lour) Oken) Terhadap
Jumlah Leukosit, Indeks Organ Limpa dan
Timus Mencit Jantan (*Mus musculus* L)

Nama Mahasiswa : Rani Anastasya Masu

Nomor Induk Mahasiswa : 31180193

Hari/Tgl Ujian : Kamis, 22 Desember 2022

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama



drh. Vinsa Cantya Prakasita SKH, M.Sc

NIK : 204E539

Pembimbing Pendamping



Kuku Madyaningrana S.Si., M.Biotech

NIK : 214E555

Ketua Program Studi Biologi



Dwi Adityarini S.Si., M. Biotech., M.Sc.

NIK : 214 E 556

LEMBAR PERYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rani Anastasya Masu

NIM : 31180193

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul :

**“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KESAMBI (*Schleichera oleosa*
(Lour.) Oken) TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT, INDEKS ORGAN LIMPA,
DAN TIMUS PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus L.*)”**

Adalah hasil karya sendiri dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau di ceritakan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 9 Februari 2023



(Rani Anastasya Masu)

31180193

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur dipanjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan naskah skripsi dengan judul “ **Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kesambi (*Schleichera oleosa* Lour.) Terhadap Jumlah Leukosit, Indeks Limpa, dan Timus Pada Mencit (*Mus musculus* L) ” sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelas Sarjana Sains (S.Si) Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana.**

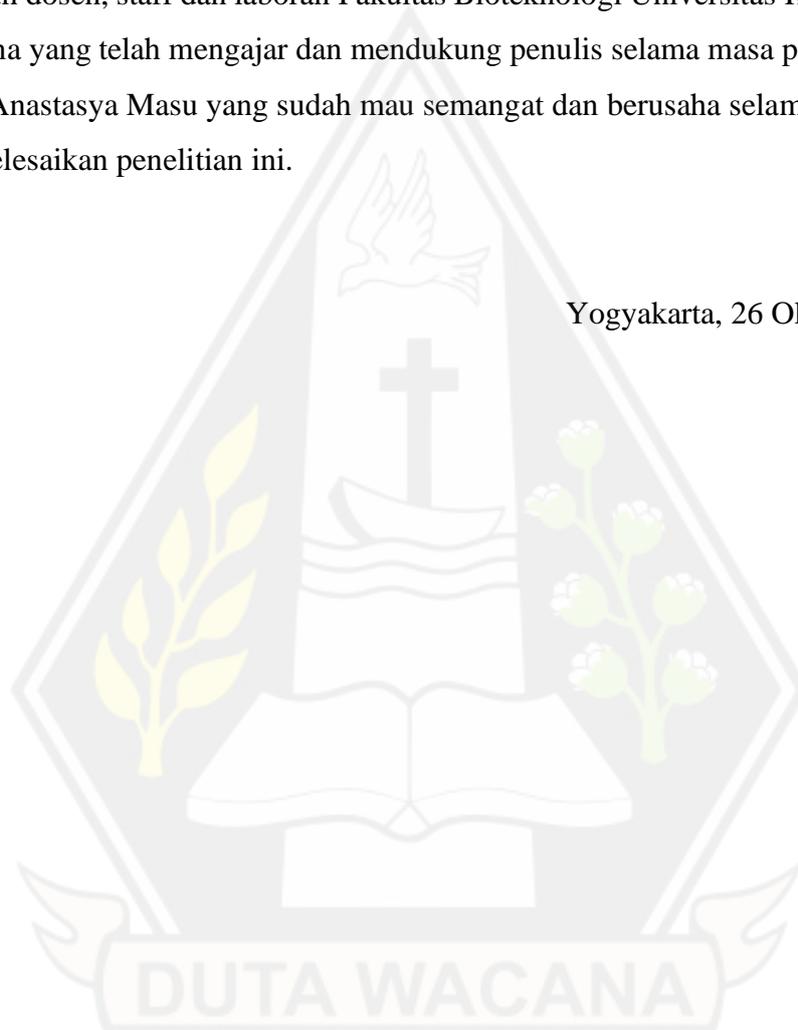
Penulis tidak dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini tanpa dukungan, bimbingan dan doa dari berbagai pihak. Maka oleh sebab itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Tuhan Yesus Kristus yang sudah menjaga, melindungi, dan memberikan kekuatan serta kemampuan kepada penulis mulai dari penulisan proposal, penelitian, dan penulisan skripsi sehingga boleh berakhir dengan baik.
2. Ibu drh. Vinsa Cantya Prakasita, SKH., M.Sc selaku dosen pembimbing I yang telah membimbing, memberikan masukan, arahan kepada penulis mulai dari awal penulisan proposal, penelitian dan sampai penulisan naskah akhir.
3. Bapak Kukuh Madyaningrana, S.Si., M.Biotech selaku dosen pembimbing II yang telah membimbing, memberikan masukan, arahan kepada penulis mulai dari awal penulisan proposal, penelitian dan sampai penulisan naskah akhir.
4. Orang tua penulis yang disayangi, bapak Ibrahim Nehemia Masu dan mama Sanci Aranci Masu Lalan, adik Meuthia Masu, Nonny Masu, dan Sion Masu yang telah mendukung penulis baik secara materi dan non materi selama proses perkuliahan di Universitas Kristen Duta Wacana.
5. Untuk keluarga besar penulis yang selalu mendukung penulis untuk menyelesaikan penulisan skripsi ini
6. Mbak Wida dan Mbak Retno selaku laboran Laboratorium Bioteknologi Kesehatan yang telah membantu penulis selama masa penelitian di laboratorium.
7. Swenjen Family (Roy, Christine, dan Cicilia) yang sudah membantu, mendukung, dan menghibur penulis selama masa penelitian hingga penulisan naskah skripsi jasa kalian akan tidak akan terlupakan.

8. Kumpul Yuk geng (Ellin, Roy, Desi, Delia, Natta, Miyen, Royen, dan Killip) yang sudah menjadi teman jalan-jalan, nongkrong, teman mengerjakan skripsi dan juga yang menjadi pihak yang mendukung selama masa penulisan skripsi
9. Calma geng (Dyo, Dimmy, Ka Glen, Gerry, Enjel) yang turut mendukung dan menghibur selama masa revisi naskah
10. Grace Dethan, Putry Lalan, Ridha Bullu, Nova Lopung, Ka Lian Amekan yang selalu mendukung dan mendoakan selama masa penulisan skripsi
11. Seluruh dosen, staff dan laboran Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana yang telah mengajar dan mendukung penulis selama masa perkuliahan.
12. Rani Anastasya Masu yang sudah mau semangat dan berusaha selama ini dalam menyelesaikan penelitian ini.

Yogyakarta, 26 Oktober 2022

Penulis



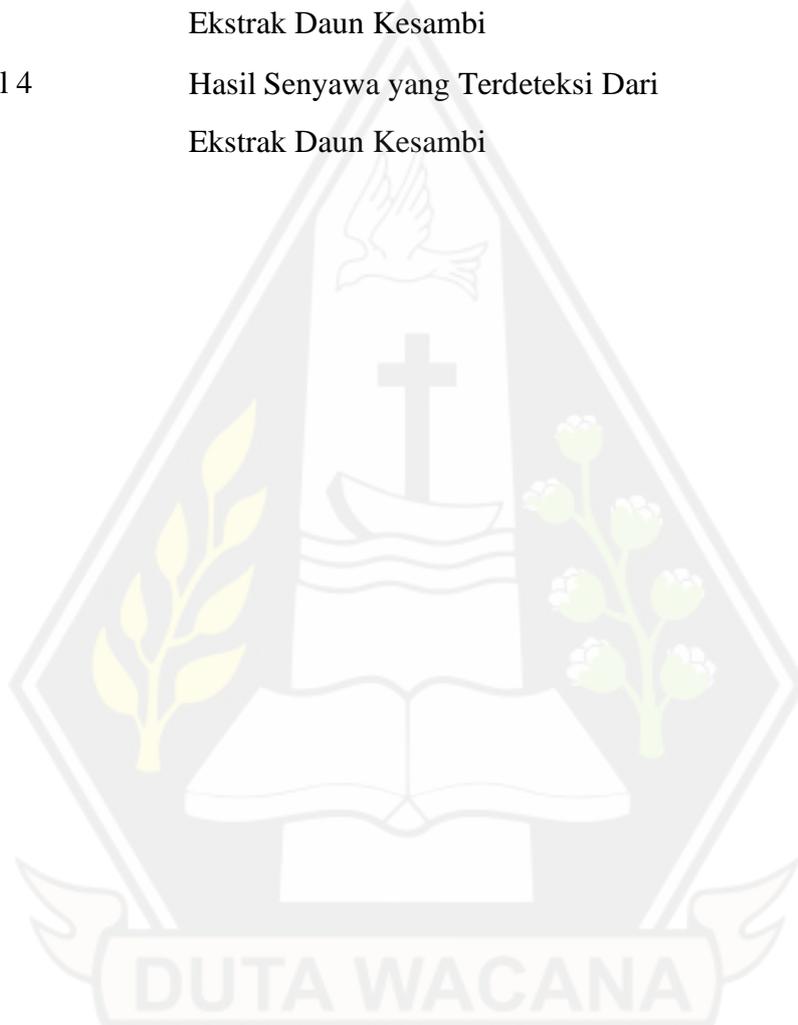
DAFTAR ISI

SAMPUL LUAR	i
SAMPUL DALAM	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....	iii
LEMBAR PERSETUJUAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN INTEGRITAS	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GRAFIK	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK.....	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
BAB II.....	3
2.1 Klasifikasi dan Distribusi Ekologi Kesambi (<i>Schleichera oleosa</i> (Lour.) oken).....	3
2.2 Habitus Dan Morfologi Kesambi (<i>Schleichera oleosa</i> Lour.)	3
2.3 Pemanfaatan Tanaman Kesambi	4
2.4 Kandungan Senyawa Fitokimia	4
2.5 Metode Ekstraksi.....	5
2.6 Skrining Fitokimia.....	5
2.7 Sistem Imun.....	6
2.8 Leukosit.....	7
2.9 Organ Limfoid.....	8
2.10 Imunomodulator	9
2.11 Mencit (<i>Mus musculus</i>)	9
BAB III.....	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	11
3.2 Bahan.....	11
3.3 Alat.....	11

3.4 Cara Kerja	12
3.4.1 Determinasi Tanaman.....	12
3.4.2 Pembuatan Simplisia	12
3.4.3 Pembuatan Ekstrak	12
3.4.4 Skrining Fitokimia Kualitatif	12
3.4.5 Skrining Fitokimia Kuantitatif	13
3.4.6 Aklimatisasi dan Induksi Complete Freund Adjuvant.....	14
3.4.7 Perlakuan Hewan Uji.....	14
3.4.7 Uji in Vivo	15
3.4.8 Analisis Data.....	16
3.5 Bagan Alir Penelitian.....	17
BAB IV	18
4.1 Hasil Determinasi Kesambi.....	18
4.2 Ekstrak Daun Kesambi (<i>Schleichera oleosa</i> Lour.) Oken)	18
4.3 Skrining Fitokimia Kualitatif	19
4.4 Skrining Fitokimia Kuantitatif	21
4.4 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kesambi (<i>Schleichera oleosa</i> Lour.) oken) Terhadap Jumlah Leukosit dan Indeks Organ.....	22
4.4.1 Jumlah Leukosit.....	23
4.4.2 Indeks Organ.....	29
BAB V	33
KESIMPULAN DAN SARAN.....	33
5.1 Kesimpulan.....	33
5.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA.....	34
LAMPIRAN	36

DAFTAR GRAFIK

Nomer Tabel	Judul Tabel	Halaman
Tabel 1	Nilai-Nilai Fisiologi Mencit	9
Tabel 2	Dosis Pemberian Pada Hewan Uji	14
Tabel 3	Hasil Skrining Fitokimia Kualitatif Ekstrak Daun Kesambi	19
Tabel 4	Hasil Senyawa yang Terdeteksi Dari Ekstrak Daun Kesambi	20



DAFTAR GAMBAR

Nomer Gambar	Judul Gambar	Halaman
Gambar 1	Tanaman Kesambi	17
Gambar 2	Hasil Ekstrak Daun Kesambi	18
Gambar 3	Hasil analisis GC-MS ekstrak daun kesambi	20
gambar 4	Morfologi Sel Neutrofil	22
Gambar 5	Jumlah neutrofil mencit jantan	22
Gambar 6	Morfologi sel monosit	24
Gambar 7	Jumlah neutrofil mencit jantan dengan metode apusan darah	24
Gambar 8	Morfologi sel limfosit	26
Gambar 9	Jumlah limfosit mencit jantan dengan metode apusan darah	26
Gambar 10	Morfologi Organ Limpa dan Timus Mencit	28
Gambar 11	Grafik berat organ limpa dan timus	29
Gambar 12	Grafik hubungan indeks organ limpa dengan limfosit	30
Gambar 13	Grafik hubungan indeks organ timus dengan limfosit	30

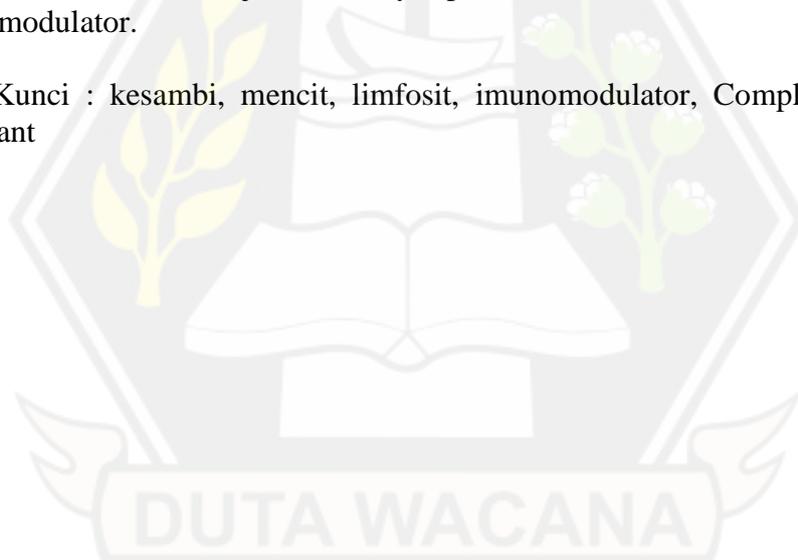
DAFTAR LAMPIRAN

Nomer	Judul Lampiran
1	Pembuatan Simplisia
2	Pembuatan Ekstrak
3	Perhitungan Rendemen
4	Dosis Freund Adjuvant
5	Perhitungan Dosis
6	Skrining Fitokimia
7	Perlakuan
8	Pembedahan
9	Penimbangan Berat Organ
10	Apusan Darah
11	Hasil SPSS Data Neutrofil
12	Hasil SPSS Data Monosit
13	Hasil SPSS Data Limfosit
14	Hasil Uji Regresi Linear Sederhana Menggunakan SPSS Data Limpa
15	Hasil Uji Regresi Linear Sederhana Menggunakan SPSS Data Timus
16	Hasil Determinasi
17	Dokumen EC

ABSTRAK

Kesambi merupakan tanaman yang banyak hidup di pulau Timor dan dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan pengasapan daging se'I dan pakan ternak. Tanaman kesambi mengandung senyawa fitokimia yang dapat berpotensi sebagai imunomodulator, seperti senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tannin. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh ekstrak daun kesambi terhadap respon imun mencit jantan dengan melihat jumlah dari sel limfosit dan indeks organ limpa dan timus. Penelitian ini meliputi ekstraksi daun kesambi dengan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, identifikasi senyawa fitokimia dengan biokimia kualitatif dan GC-MS. Uji in vivo dilakukan dengan menginduksi mencit jantan dengan Complete Freund Adjuvant (CFA) melalui sub kutan, dan diberi 6 perlakuan secara oral selama 8 hari yaitu perlakuan tanpa perlakuan, control negative (aquades), control positif (dexamethasone), dan tiga dosis ekstrak daun kesambi (0,021 mg/gBB, 0,042 mg/gBB, 0,084 mg/gBB). Perhitungan jumlah limfosit dilakukan pada hari ke 0, 4, dan 8, sedangkan perhitungan indeks organ limpa dan timus dilakukan setelah mencit dikorbankan. Hasil identifikasi biokimia kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak daun kesambi mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dalam ekstrak daun kesambi. pemberian ekstrak daun kesambi dengan dosis 0,084 mg/gBB menurunkan jumlah limfosit sampai jumlah normal limfosit mencit. Indeks organ limpa berkorelasi dengan jumlah limfosit pada pemberian ekstrak daun kesambi, sedangkan indeks organ timus tidak berkorelasi dengan jumlah limfosit. hal ini menunjukkan adanya potensi daun kesambi sebagai agen imunomodulator.

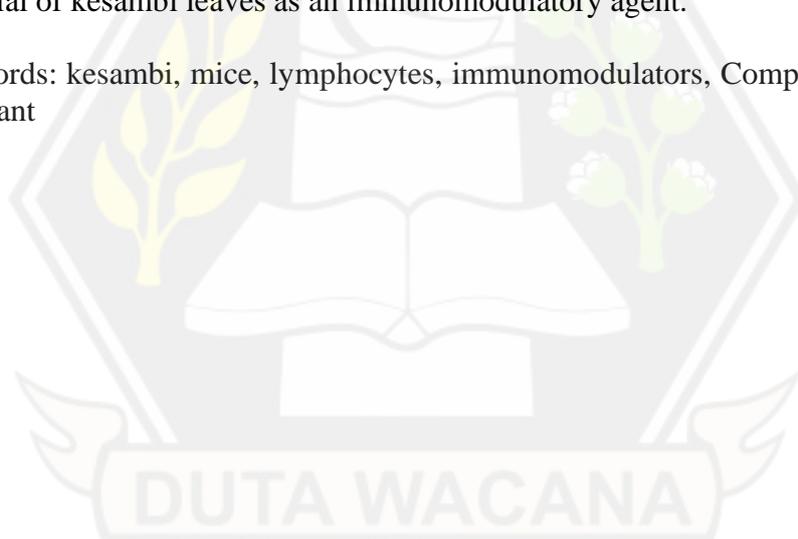
Kata Kunci : kesambi, mencit, limfosit, imunomodulator, Complete Freund Adjuvant



ABSTRACT

Kesambi is a plant that lives a lot on the island of Timor and is used by the community as an ingredient for smoking se'I meat and animal feed. Kesambi plants contain phytochemical compounds that have potential as immunomodulators, such as flavonoids, alkaloids, saponins, tannins. This study aims to study the effect of kesambi leaf extract on the immune response of male mice by looking at the number of lymphocyte cells and the indices of the spleen and thymus organs. This research involved extracting kesambi leaves using the maceration method using 70% ethanol, identification of phytochemical compounds with qualitative biochemistry and GC-MS. The in vivo test was carried out by inducing male mice with Complete Freund Adjuvant (CFA) subcutaneously, and given 6 treatments orally for 8 days namely treatment without treatment, negative control (aquades), positive control (dexamethasone), and three doses of leaf extract kesambi (0.021 mg/gBB, 0.042 mg/gBB, 0.084 mg/gBB). Calculation of the number of lymphocytes was carried out on days 0, 4, and 8, while the calculation of the spleen and thymus organ indices was carried out after the mice were sacrificed. The results of qualitative biochemical identification showed that kesambi leaf extract contained flavonoids, alkaloids, saponins, tannins in kesambi leaf extract. Giving kesambi leaf extract at a dose of 0.084 mg/gBW reduced the number of lymphocytes to a normal number of mice lymphocytes. The index of the spleen organ correlated with the number of lymphocytes in the administration of kesambi leaf extract, while the index of the thymus organ did not correlate with the number of lymphocytes. this shows the potential of kesambi leaves as an immunomodulatory agent.

Keywords: kesambi, mice, lymphocytes, immunomodulators, Complete Freund Adjuvant



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sistem imun adalah sistem yang terdiri dari sel, protein maupun sinyalnya kimiawi sebagai repon tubuh ketika terpapar oleh suatu zat asing yang masuk. Sistem imun terbagi menjadi, sistem imun bawaan dan sistem imun spesifik yang memiliki fungsi yang sama yaitu mencegah dan melawan infeksi yang disebabkan oleh bakteri, jamur, virus, dan organisme lainnya. Sel leukosit memiliki peran yang penting dalam sistem imun, karena leukosit secara langsung dapat berinteraksi dengan antigen (Rosale *et al.*, 2016).

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri, jamur, virus, dan mikroorganisme lainnya dapat diatasi dengan indikasi imunomodulator, baik itu yang bersifat dalam meningkatkan fungsi sistem imun (imunostimulan), menekan fungsi sistem imun (imunosupresan). Penggunaan obat sintetis dalam penyembuhan penyakit infeksi memberikan efek samping bagi Kesehatan, seperti gagal ginjal, kerusakan hati, lambung, sakit kepala, dll. Oleh sebab itu, penggunaan obat yang berbahan dasar alam mulai diminati karena dianggap tidak mempunyai efek samping.

Tanaman kesambi dapat dijumpai di Provinsi Nusa Tenggara Timur, terkhususnya pulau Timor. Tanaman ini dapat hidup di daerah dengan tingkat kemarau panjang. Di Nusa Tenggara Timur, tanaman kesambi dimanfaatkan sebagai bahan untuk pengasapan daging se'I dan daun kesambi dimanfaatkan untuk pakan hewan ternak. Di Nusa Tenggara Timur pemanfaatan kesambi masih belum optimal terkhususnya dalam bidang Kesehatan, padahal kesambi mengandung senyawa fitokimia seperti, alkaloid, flavonoid, quercetin, terpenin, alkaloid, triterpenoid, sesquiterpenin, antosianin, resin, glikosida, sianidin, terpenoid, saponin, steroid, dan coumarin (Situmeang dkk., 2016). Senyawa-senyawa tersebut memiliki peranan sebagai sebagai anti oksidan, anti kanker, anti tumor, anti jamur, anti inflamasi, imunomodulator, dll. Berdasarkan hasil penelitian (Tamelan dkk., 2021) ekstrak kulit batang kesambi menunjukkan adanya efek imunomodulator yang ditandai dengan adanya pengaruh pemberian ekstrak kulit batang kesambi terhadap jumlah limfosit mencit yang diinduksi dengan eritrosit domba. Maka dari itu, dilihat dari ketersediaan tanaman kesambi

di Nusa Tenggara Timur yang banyak, penelitian ini bertujuan untuk menggali potensi tanaman kesambi terutama bagian daun sebagai agen imunomodulator.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, diperoleh rumusan masalah sebagai berikut :

- 1). Senyawa fitokimia apa yang terkandung dalam ekstrak daun kesambi?
- 2). Apakah pengaruh ekstrak daun kesambi dapat berpengaruh terhadap respon imun mencit yang dilihat dari jumlah leukosit dan indeks organ limpa dan timus?
- 3). Berapakah dosis terbaik ekstrak daun kesambi yang memberikan efek imunomodulator terhadap jumlah leukosit dan indeks organ limpa dan timus mencit jantan ?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1). Mengidentifikasi senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak daun kesambi
- 2). Mengetahui dan mempelajari pengaruh pemberian ekstrak daun kesambi terhadap respon imun mencit jantan yang dilihat dari jumlah leukosit, indeks organ limpa dan timus mencit
- 3). Mengetahui dosis terbaik ekstrak daun kesambi yang memberikan efek imunomodulator terhadap jumlah leukosit dan indeks organ limpa dan timus mencit jantan

1.4 Manfaat Penelitian

- 1) Dapat memanfaatkan senyawa yang terkandung dalam daun kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) Oken) sebagai agen imunomodulator
- 2) Hasil penelitian dapat memberikan tambahan informasi kepada masyarakat luas mengenai manfaat tanaman kesambi sebagai agen imunomodulator

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi dan Distribusi Ekologi Kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) oken)

Klasifikasi tanaman kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) oken) adalah sebagai berikut (IUCN, 2018) :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivision	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Rosidae
Order	: Sapindales
Family	: Sapindaceae
Genus	: <i>Schleichera</i>
Species	: <i>Schleichera oleosa</i> (Lour.) oken

Tanaman kesambi memiliki beberapa nama lokal, misalnya di Pulau Jawa biasanya disebut dengan nama kesambi, kasambi dan sambi. Di Nusa Tenggara Timur biasa disebut dengan nama kusambi, kusaming, kahembi, kahabe, kabahi, kalabahi, kule. Di Medan biasa disebut dengan nama kesambhi. Di Makasar biasa disebut dengan nama bado dan adding (Suita, 2012).

2.2 Habitus Dan Morfologi Kesambi (*Schleichera oleosa* Lour.)

Tanaman kesambi pada umumnya tumbuh di hutan tropis dan tanaman kesambi mampu bertahan pada daerah yang memiliki tingkat kekeringan yang tinggi dengan suhu sekitar 35 - 47° C. Tinggi pohonnya dapat mencapai 24 – 40 meter, batang kesambi berwarna coklat dengan kulit batang yang kasar dan bercabang, daun kesambi memiliki lebih dari satu helai daun dalam satu tangkai

dengan panjang daunnya 11 - 25 cm, lebar daunnya sekitar 2 - 6 cm, ujung daun kesambi berbentuk lancip, tulang daunnya menyirip, dan warna daunnya hijau. Bunga kesambi memiliki bunga majemuk, jumlah kelopak bunga 4 - 6 lembar dengan warna hijau dan mahkota bunga berwarna putih. Buah kesambi dibungkus kulit buah berwarna cokelat, daging buah berwarna cokelat dengan rasa daging yang manis ketika matang dan buah yang masih mentah akan berasa asam sepat. diameter biji kesambi sekitar 6 - 10 mm. Kesambi memiliki akar tunggang dengan warna cokelat (Pawoko, 2009).

2.3 Pemanfaatan Tanaman Kesambi

Tanaman kesambi dapat dimanfaatkan baik itu batang, daun, buah dan biji. Di Nusa Tenggara Timur, batang kesambi sering dimanfaatkan sebagai kayu dan daun bakar dan untuk pengasapan daging atau se'I karena arang dan asap kesambi sangat bagus (Malelak dkk., 2017). Masyarakat Bali dan Madura menggunakan kulit kesambi sebagai obat kulit, batang kesambi dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan jangkar bagi perahu kecil (Situmehang dkk., 2016). Daun kesambi dimanfaatkan sebagai obat korengan, kudis, eksem, dan obat radang telinga. Buah kesambi mengandung vitamin C yang tinggi antioksidan (Suito, 2012).

2.4 Kandungan Senyawa Fitokimia

Tanaman kesambi sangat penting bagi dunia pengobatan karena kandungan senyawa fitokimia, seperti tanin, alkaloid, glikosida, minyak atsiri, dan lain-lain. Organ penyimpanan tanaman mengandung senyawa aktif tersebut (Khyade et al., 2009; Tiwari et al., 2010). Ekstrak kulit batang kesambi mengandung senyawa steroid, flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan fenolat dengan total kadar fenol sebesar 6,7491 mg GAE (Susilawati, 2015). Ekstrak kulit batang kesambi mengandung senyawa fitokimia alkaloid, flavonoid, tanin dan steroid yang terdeteksi dengan uji biokimia kualitatif (Tamelan dkk., 2022). Daun kesambi memiliki kandungan fitokimia seperti, alkaloid, flavonoid, steroid, fenolik, dan tanin (Situmeang dkk., 2016). Ekstrak daun kesambi mengandung senyawa seperti, karbohidrat, glikosida, polisakarida, protein, alkaloid, steroid, triterpenes, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri (Jose dkk., 2018).

Flavonoid merupakan salah satu senyawa bioaktif yang banyak ditemukan pada jaringan tumbuhan. Senyawa flavonoid dapat berperan sebagai anti-oksidan, anti-inflamasi, anti-alergi, anti-mikroba, anti-plasmatik, hipolipidemik, dan perangsang regenerasi hati dikonsumsi (Bone et al., 2013). Senyawa flavonoid dapat berperan sebagai imunomodulator terkhususnya sebagai imunostimulan dengan cara meningkatkan proliferasi limfosit dan aktivasi makrofag. Senyawa flavonoid diketahui hampir selalu aman untuk dikonsumsi (Bone et al., 2013). Senyawa flavonoid dapat menghambat pelepasan asam arakidonat dan sekresi lisozim untuk menghambat fase proliferasi dan eksudatif sel. terlibat dalam peradangan (Rinidar dkk, diperoleh angka rata-rata yang lebih tinggi dari 2018). Aktivitas penghambatan ini menghasilkan berkurangnya substrat arakidonat untuk jalur siklooksigenase dan lipoksigenase sehingga dapat menekan jumlah prostaglandin, endoperoksida, dan leukotrien. Pengurangan berbagai senyawa ini dapat mempengaruhi proses inflamasi dan jumlah sel leukosit yang dihitung pada setiap migrasi yang mengakibatkan penekanan peningkatan jumlah limfosit (Aria dkk , 2020; Attiq dkk , 2018).

Senyawa saponin mempunyai aktivitas farmakologi yang luas seperti perannya sebagai antivirus, immunomodulator, antitumor, antijamur, antiinflamasi, dapat membunuh kerang-kerangan, hipoglikemik, dan efek hipokolesterol (Hariana, 2013). Selain itu, saponin juga berfungsi sebagai zat antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, dan antijamur sehingga dapat digunakan untuk proses penyembuhan luka (Novitasari, 2016).

2.5 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode dalam memisahkan senyawa atau zat yang terkandung dalam jaringan tanaman atau hewan. Ekstraksi bertujuan untuk memisahkan metabolit yang terkandung dalam pelarut tertentu dari metabolit yang tidak larut (Ihsan, 2018). Factor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi adalah, ukuran partikel, konsentrasi pelarut, rasio pelarut dalam sampel, dan waktu ekstraksi (Zhu et al., 2011). Yang mempengaruhi keberhasilan pemurnian suatu ekstrak yaitu rendemen, mutu dan kadar senyawa aktif yang dihasilkan. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut adalah cara pemurnian ekstrak dari bahan alami (Hernani et al., 2007).

2.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan salah satu metode yang sering digunakan dalam mempelajari komponen senyawa aktif yang terkandung dalam suatu sampel, baik itu struktur kimia, biosintesis, penyebaran secara alamiah dan fungsi biologis. Samoel tanaman yang dapat digunakan dalam skrining fitokimia dapat berupa daun, batang, buah, bunga, umbi, dan akar (Agustina, 2016). Untuk mendeteksi atau mengidentifikasi suatu senyawa fitokimia yang terkandung dalam suatu sampel dapat menggunakan dua metode, yaitu secara kuantitatif dan kualitatif. Skrining fitokimia dapat memberikan gambaran mengenai kandungan yang terkandung dalam suatu bahan alam.

Skrining fitokimia secara kualitatif dapat menggunakan metode reaksi warna dengan menggunakan pelarut-pelarut tertentu. Dalam proses skrining fitokimia pemilihan pelarut dan metode ekstraksi menjadi hal yang penting karena pelarut yang tidak sesuai dapat menyebabkan senyawa aktif yang diinginkan tidak dapat terikat secara optimal (Kristianti dkk., 2008).

Skrining fitokimia secara kuantitatif dapat menggunakan metode GC-MS (*Gas Chromatography and Mass Spectroscopy*). GC-MS merupakan salah satu metode untuk mengidentifikasi suatu sampel. Mekanisme GC-MS yaitu pemisahan sampel dilakukan dengan menggunakan kromatografi gas yaitu pemisahan solute-solut yang mudah menguap sedangkan analisis menggunakan spektrofotometri massa yaitu untuk menghasilkan ion dari senyawa organik maupun senyawa anorganik dengan metode yang sesuai, berdasarkan mass-to-charge (m/z) dan mendeksi secara kualitatif dan kuantitatif dengan m/z dari masing-masing senyawa dan kelimpahannya (Gross, 2017). Metode GC-MS memiliki keunggulan seperti, efisien waktu dan tenaga, resolusi tinggi sehingga mampu untuk mendeteksi senyawa yang memiliki ukuran partikel kecil, aliran gas terkontrol dengan kecepatan yang stabil, waktu analisis cepat, tidak merusak sampel, sensitivitas tinggi, dapat memisahkan berbagai senyawa yang tercampur, dan mampu menganalisis senyawa dalam konsentrasi rendah (Hermanto, 2008).

2.7 Sistem Imun

Sistem imun adalah suatu sistem yang membentuk kemampuan tubuh untuk melawan bibit penyakit dengan cara melawan zat asing yang masuk kedalam tubuh (Irianto, 2012). Menurut (Fox, 2008) sistem imun meliputi struktur dan proses yang menyediakan pertahanan bagi tubuh untuk melawan zat asing atau bibit penyakit. Sistem imun terbagi menjadi dua jenis yaitu, sistem imun bawaan dan sistem imun adaptif kedua respon imun ini saling bekerja sama untuk menyediakan perlindungan dengan aktivasi dan proliferasi sel-sel efektor.

Sistem imun bawaan merupakan proses perlindungan awal tubuh terhadap antigen yang masuk, seperti protein asing maupun dinding sel. Sistem imun bawaan bersifat non spesifik yang artinya sistem imun bawaan tidak membutuhkan paparan antigen tersebut sebelumnya dan memiliki respon yang sama terhadap semua antigen yang masuk kedalam tubuh. Sistem imun bawaan berfungsi untuk mencegah dan mengeliminasi zat asing yang masuk kedalam jaringan (Irianto, 2012). Sel utama yang berperan dalam sistem imun bawaan yaitu sel mononuklear (sel monosit dan sel makrofag) dan sel polimorfonuklear atau granulosit (sel neutrofil). Sel-sel tersebut berfungsi dalam menangkap, mengenali, dan mendeskripsikan antigen yang masuk kepada sel T pada sistem imun adaptif (Wasityastuti dkk., 2020).

Sistem imun adaptif merupakan sistem imun yang harus mengenali terlebih dahulu zat asing yang masuk kedalam tubuh. Sistem imun ini bersifat spesifik karena responnya terhadap setiap zat asing yang masuk berbeda-beda. Sistem imun adaptif terbagi menjadi 2 jenis yaitu sistem imun humoran dan sistem imun seluler. Sel utama yang berperan dalam sistem imun adaptif adalah sel limfosit (Wasityastuti dkk., 2020).

2.8 Leukosit

Leukosit diproduksi oleh jaringan hemopoetik dan jaringan limpatik. Leukosit berfungsi dalam sistem pertahanan tubuh akibat infeksi (Sutedjo, 2006). Jumlah leukosit dalam tubuh dapat berubah-ubah sesuai dengan jumlah antigen yang masuk kedalam tubuh. Leukosit terdiri dari 2 jenis yaitu granulosit dan agranulosit (Sutedjo, 2006). Granulosit adalah sel darah putih yang mempunyai granula pada sitoplasmanya. Granula yang dimiliki mempunyai

perbedaan kemampuan untuk mengikat warna, seperti eosinophil memiliki granula berwarna merah terang, basophil berwarna biru, dan neutrofil berwarna ungu pucat. Agranulosit adalah bagian dari sel darah putih yang memiliki inti sel satu lobus dan tidak memiliki granula pada sitoplasmanya yang termasuk leukosit agranulosit adalah sel limfosit dan monosit (Tarwoto, 2007). Leukosit terbagi menjadi beberapa jenis sel yaitu :

a. Neutrofil

Neutrofil merupakan sel dengan presentase jumlah terbanyak dalam sel darah putih yaitu sekitar 60-70%. Fungsi dari sel neutrofil yaitu sebagai garis pertahanan pertama apabila ada kerusakan jaringan dan masuknya antigen kedalam tubuh. Neutrofil akan menangkap sinyal kimiawi atau kemotaksis kemudian sel akan bergerak mendekati sel yang diserang mikroba. Sel neutrophil dapat bergerak meninggalkan peredaran darah dan menuju jaringan yang terinfeksi dan membunuh mikroba penyebab infeksi (Aripin Ipin, 2019).

b. Monosit

Sel monosit merupakan sel leukosit yang mempunyai ukuran terbesar, berdiameter 15-20 μm dan jumlahnya 1-8% dari seluruh sel darah putih. Sel monosit berperan sebagai prekursor untuk makrofag dan juga sel monosit berperan dalam mengidentifikasi antigen yang masuk (Samuelson, 2007). sel monosit memberikan pertahanan fagositosis yang lebih efektif. Sel monosit yang sudah dewasa akan bersirkulasi selama beberapa jam dan sel bergerak menuju jaringan dan berdiferensiasi menjadi sel makrofag (Kiswari, 2014).

c. Limfosit

Limfosit merupakan sel leukosit yang memiliki jumlah terbanyak setelah sel neutrofil dari total sel darah putih yaitu sekitar 20-40% dengan ukuran 7-20 μm . Limfosit memiliki peran yang penting dalam sistem imun tubuh karena sel ini mempunyai pengaruh terhadap respon imun. sel limfosit berperan dalam sistem imun spesifik. Sel limfosit banyak ditemukan di organ limfoid seperti timus, nodul limfatikus, limpa, dan pada manusia bisa ditemukan pada organ apendiks (Prakoeswa, 2020). Sel limfosit berdasarkan jenisnya dibagi menjadi dua jenis yaitu sel limfosit T dan sel Limfosit B.

2.9 Organ Limfoid

Organ limfoid merupakan organ yang memiliki peran untuk menjaga sistem kekebalan tubuh. Organ limfoid terdiri dari timus, bursa fabrisius dan limpa. Organ-organ limfoid tersebut saling berhubungan dengan sel limfosit, karena ketika berat dari organ limfoid menurun maka antibodi yang akan dihasilkan oleh sel limfosit akan menurun (Kusnadi, 2009).

Timus merupakan organ yang letaknya disebelah kanan dan kiri saluran pernafasan, timus memiliki warna kuning kemerahan, bentuk tidak beraturan (Adriyana, 20110). Timus memiliki peran yang cukup penting yaitu, timus dapat menghasilkan hormone thymosin yang berfungsi dalam pemebentukan sel T yang kemudian sel limfosit T dapat melawan berbagai zat asing yang masuk kedalam tubuh dan mengaktifkan antibodi limfosit lainnya (Guyton dan Hall, 2000).

Limpa merupakan organ limfoid sekunder yang responif terhadap stimulasi antigen (Arfanda dkk., 2019). Limpa berperan dalam menyaring darah dan sebagai koordinasi respon imun. Limpa tersusun atas pulpa merah dan pulpa putih. Pulpa merah sebagai tempat penghancuran eritrosit yang tidak diperlukan lagi sedangkan pulpa putih menjadi tempat sel limfosit untuk berpoliferasi (Matheos dkk., 2013). Pulpa putih berfungsi untuk melawan infeksi. Limfosit T banyak menumpuk pada lapisan limfoid periarteriolar dan sel limfosit B terdapat dalam pusat-pusat germinal dibagian perifer. (Guyton dan Hall, 2000).

2.10 Imunomodulator

Imunomodulator merupakan sekelompok senyawa yang mempunyai kemampuan untuk memodifikasi dan memperbaiki respon alami sistem imun, sehingga memberikan pengaruh terhadap respon imun baik itu melalui stimulasi atau disupresi yang dapat disebut juga sebagai *Biologic Respons Modifier* (BRM) (Setiarto dkk., 2021). Berdasarkan cara kerjanya imunomodulator terbagi menjadi 3 cara yaitu imunorestorasi, imunostimulan, dan imunosupresan (Setiarto dkk., 2021).

Imunorestorasi adalah senyawa yang berperan dalam pengembalian fungsi sistem imun dengan cara memberikan komponen sistem imun seperti, imunoglobulin dalam bentuk *Immune Serum Globulin* (ISG), *Hyperimmune*

Serum Globulin (HSG), plasma, timus, dll (Setiarto dkk., 2021). Imunostimulan merupakan senyawa yang dapat memperbaiki fungsi sistem imun dengan cara merangsang sistem imun dengan menggunakan bahan yang dapat berpotensi dalam mengubah respon imun terutama dalam meningkatkan respon imun (Setiarto dkk., 2021). Imunosupresan merupakan senyawa yang bekerja dalam memperbaiki sistem imun dengan cara menekan respon imun ketika produksi respon imun berlebihan sehingga tidak terjadi penyakit autoimun maupun autoinflamasi (Setiarto dkk., 2021).

Tanaman yang memiliki efek imunomodulator seperti meniran, daun afrika, kemangi, rimpang, kesambi, mengkudu, dll. Senyawa-senyawa yang terkandung dalam tanaman yang berpotensi sebagai imunomodulator adalah golongan senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, tannin, saponin, dan beberapa senyawa organik lainnya yang mengandung nitrogen (Setiarto dkk., 2021).

2.11 Mencit (*Mus musculus*)

Mencit merupakan hewan yang sudah sering digunakan sebagai model laboratorium dengan kisaran penggunaan mencit sebagai hewan uji sekitar 40-80%. Mencit memiliki ukuran tubuh dan berat badan yang lebih kecil dibandingkan dengan tikus. Mencit memiliki keunggulan sebagai hewan uji yaitu, masa hidup relative pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifat mencit tinggi, dan penanganannya mudah (Suckow dkk., 2001). Mencit termasuk kedalam hewan mamalia yang memiliki sistem pernafasan, sistem reproduksi yang sama dengan manusia.

Klasifikasi mencit (*Mus musculus*) :

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodensia

Family : Murinane

Genus : *Mus*

Spesies : *Mus musculus*

Tabel 1. Nilai-nilai fisiologi mencit sebagai berikut (Arrington,1972) :

Suhu tubuh	95-102,5°F
Denyut jantung	320-840 bpm
Respirasi	84-280
Berat lahir	2-4 gram
Berat dewasa	20-40 gram (jantan) 25-45 gram (betina)
Masa hidup	1-2 tahun
Maturitas seksual	28-49 hari
Target suhu lingkungan	17,78-26,11 °C
Target kelembapan lingkungan	30-70%
Gestasi	19-21 hari

Komponen darah mencit tersusun dari sel darah merah normal mencit yaitu $5,0 - 9,5 \times 10^6$ sel/mm³; hemoglobin normal mencit $10,9 \times 16,3$ g/dl (Suckow dkk., 2001). Rata-rata presentase limfosit normal pada mencit berkisar antara 55-95%; presentase monosit normal pada mencit berkisar antara 0,1-3,5%; presentase neutrofil normal pada mencit berkisar antara 10-40%, presentase oesinofil normal pada mencit berkisar antara 0-4 % (Fahrimal dkk., 2014); Presentase basophil normal mencit berkisar antara 0-7% dan jumlah oesinofil normal mencit adalah 0-1% (Bijanti dkk., 2014).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen DutaWacana. Waktu penelitian ini dimulai pada bulan Maret 2022 hingga bulan Juni 2022.

3.2 Bahan

Daun kesambi (*Schleichera oleosa* L.0 yang digunakan sebagai bahan penelitian diambil dari Desa Bipolo, Kec. Sulamu, Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur, air bersih untuk membersihkan daun kesambi, Etanol 96% (Merek, Jerman) yang diencerkan menjadi etanol 70% sebagai pelarut maserasi, kain mori (Indonesia) untuk menyaring larutan setelah proses maserasi, senyawa untuk skrining fitokimia (NaCl, serbuk HCL 2 N, NaCl 10%, Mg, H₂SO₄, FeCl₃, Reagen wadger, reagen mayer). Pada penelitian ini menggunakan mencit jantan galur Balb/C yang berusia 2-3 bulan yang diperoleh dari Tikus Lover Jogja jl. Lok Saman, Druwo, Kec Sewon, Bantul, Yogyakarta. Klorofom untuk mengorbankan hewan uji, pewarna giemsa dari Laboratorium Bio Analiik (Surabaya, Indonesia) sebagai pewarna apusan darah, metanol (Merck, Jerman) untuk fiksasi preparat, minyak imersi (Jepang) untuk memperjelas objek yang akan diamati, aquades (General Labora, Indonesia) sebagai kontrol negatif, Dexamethasone (Laboratorium Hansen, Indonesia) sebagai kontrol positif, pakan mencit ratio (Lab Animal Supplies, UGM), serbuk kayu (La Barong Pet Shop, Indonesia) untuk alas kandang mencit.

3.3 Alat

Blender (Philips, Belanda) untuk menghaluskan sampel daun kesambi, pengayak plastik (Indonesia) untuk mengayak sampel, toples kaca sebagai maserator, pengaduk (Indonesia) untuk mengaduk sampel, corong kaca, *Rotary evaporator* dengan komponen Pyrex, Iwaki Glass, IKA HB10, IKA RV8, IKA, MVP 10 Basic Compact Vacuum Pump (Jerman) untuk menguapkan sisa pelarut yang ada pada ekstrak, oven (Cosmos, Indonesia) untuk menguapkan pelarut pada ekstrak, seperangkat alat GC-MS (LLPT, UGM) untuk mengukur dan mengidentifikasi kandungan senyawa dalam sampel, tabung reaksi untuk uji fitokimia, kompor listrik Maspion (Surabaya, Indonesia) sebagai pemanas, pipet tetes, pipet ukur, mikropipet, mesin vortex, kandang hewan sebagai tempat pemeliharaan hewan uji, seperangkat alat bedah untuk membedah hewan uji, mikroskop Olympus (China) untuk mengamati dan menghitung darah putih mencit, objek glass slides (China) untuk apusan darah, hand counter (Indonesia), spuit 1 cc untuk meninjeksi Freund adjuvant dan mengindeksi ekstrak, sonde mencit (Indonesia)

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Determinasi Tanaman

Tanaman kesambi yang terdiri dari daun, batang, dan akan yang diambil dari Desa Bipolo, Kec Sulamu, Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur, dikirim ke Laboratorium Sistematika Tumbuhan UGM yang berada di Jl. Teknika Selatan Sekip Utara Yogyakarta untuk dilakukan uji determinasi. Hasil determinasi di peroleh 3 minggu setelah pengiriman sampel.

3.4.2 Pembuatan Simplisia

Daun kesambi dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun. Setelah dicuci daun kesambi dikeringkan dibawah sinar matahari sampai kering kemudian, daun yang kering dihaluskan menggunakan blender sampai mendapatkan serbuk simplisia. Serbuk simplisia yang diperoleh yaitu 1 kg.

3.4.3 Pembuatan Ekstrak

Proses pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstraksi ini dilakukan dengan menggunakan 2 bejana kaca yang diisi masing-masing dengan 500 mg bubuk simplisia kemudian ditambahkan dengan etanol 70% sampai serbuk terendam lalu dihomogenkan kemudian ditutup dan dibiarkan di ruangan yang kedap cahaya selama 5 hari sambil sesekali diaduk. Setelah 5 hari ekstrak kemudian disaring menggunakan kain mori, lalu diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian dihitung rendemen :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot Ekstrak (Awal)}}{\text{Bobot Simplisia (Awal)}} \times 100\%$$

3.4.4 Skrining Fitokimia Kualitatif

a. Uji senyawa alkaloid

Ekstrak daun kesambi sebanyak 0,4 gram ditambahkan dengan larutan HCl 2 N sebanyak 5 ml didalam tabung reaksi kemudian dipanaskan selama 2-3 menit. Larutan didinginkan kemudian, ditambahkan NaCl sebanyak 0,3 g dan disaring. Filtrat yang didapatkan ditambahkan dengan HCl 2 N sebanyak 5 ml. kemudian, larutan dibagi menjadi larutan 1A, 1B, dan 1C. Larutan 1A digunakan sebagai blanko; larutan 1B ditambahkan dengan reagen mayer hingga muncul

larutan keruh yang menandakan adanya senyawa alkaloid, dan larutan 1C ditambahkan dengan pereaksi wagner, terbentuk endapan menunjukkan adanya senyawa alkaloid (Muthmainnah, 2017).

b. Uji senyawa flavonoid

Ekstrak daun kesambi sebanyak 0,4 gram dilarutkan dengan pelarut n-Heksana kemudian, ditambahkan etanol 70% dan larutan dibagi menjadi 2 bagian, yaitu larutan 2A dan 2B. Larutan 2A digunakan sebagai blanko dan larutan 2B ditambahkan dengan HCl sebanyak 0,5 ml kemudian dipanaskan selama 15 menit dan diamati perubahan warnanya. Muncul warna merah atau kuning menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Muthmainnah, 2017).

c. Uji senyawa tanin

Ekstrak daun kesambi sebanyak 0,4 gram dimasukkan didalam tabung reaksi kemudian, ditambahkan air panas sebanyak 10 ml dan ditambahkan NaCl sebanyak 3-4 tetes. Larutan dibagi menjadi 2 bagian, yaitu 3A dan 3B. Larutan 3A digunakan sebagai blanko dan larutan 3B ditambahkan dengan larutan FeCl₃ sebanyak 3-4 tetes. Kemudian, diamati warnanya. Jika terbentuk warna hijau biru, biru hitam menunjukkan adanya senyawa tanin (Muthmainnah, 2017).

d. Uji senyawa saponin

Ekstrak daun kesambi sebanyak 0,4 gram dimasukkan didalam tabung reaksi kemudian ditambahkan air panas sebanyak 5 ml. larutan didinginkan, kemudian divortex selama 30 detik dan diamati bila terbentuk buih yang stabil setinggi 3 cm diatas permukaan cairan dan pada penambahan HCl 2 N sebanyak 1 tetes buih tidak hilang menunjukkan adanya senyawa saponin (Muthmainnah B, 2017).

3.4.5 Skrining Fitokimia Kuantitatif

Ekstrak daun kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) oken) sebanyak 3 gram di kirim ke LPPT UGM yang berada di Jl. Kaliurang KM.4 Sekip Utara. Sampel dimasukkan kedalam botol sampel dan ditutup rapat dan dimasukkan kedalam plastik wrap. Bagian luar sampel di beri label dengan kode EDK.

3.4.6 Aklimatisasi dan Induksi Complete Freund Adjuvant

Hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari sebelum diberikan perlakuan. Tujuan aklimatisasi agar hewan uji dapat beradaptasi dengan lingkungan yang baru sehingga hewan uji terhindar dari stres dan kematian. Setelah proses

aklimatisasi selesai, hewan uji diinduksi dengan Complete Freund Adjuvant dengan perbandingan 1:10. 1 µm Freund Adjuvant dicampurkan dengan 100 µm aquades steril kemudian disuntikan kepada mencit melalui subkutan dengan menggunakan jarum 1 cc

3.4.7 Perlakuan Hewan Uji

Hewan uji diberikan pakan sebanyak 40 gram dan minum sebanyak 60 ml. Hewan uji ditempatkan pada kandang yang layak dengan alas serbuk kayu dan kandangnya dibersihkan dan serbuk kayu diganti setiap harinya. Setelah proses aklimatisasi hewan uji dipilih secara acak dan dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit jantan. Berikut pengelompokan mencit jantan :

- Kelompok 1 yaitu kelompok tanpa perlakuan
- Kelompok kontrol negatif : Induksi 100µm Complete Freund Adjuvant + aquades 0,2 ml
- Kelompok kontrol positif 3 Induksi 100µm Complete Freund Adjuvant + dexamethasone
- Kelompok dosis rendah : Induksi 100µm Complete Freund Adjuvant + ekstrak daun kesambi
- Kelompok dosis sedang : Induksi 100µm Complete Freund Adjuvant + ekstrak daun kesambi dosis sedang
- Kelompok dosis tinggi : Induksi 100µm Complete Freund Adjuvant + ekstrak daun kesambi dosis tinggi

Masing-masing sediaan diberikan secara oral 1 kali sehari selama 8 hari. Untuk perhitungan dosis menggunakan rumus :

$$\frac{A \text{ (animal)}}{B \text{ (Human)}} = \frac{KmB}{KmA}$$

Tabel. 2 Dosis pemberian pada hewan uji

Kelompok perlakuan	Bahan Perlakuan	Dosis

Tanpa Perlakuan	Air	-
Kontrol Negatif	Aquades steril	0,2 ml
Kontrol Positif	Dexamethasone	0,0002 mg/gBB
Dosis 1	Ekstrak daun kesambi (<i>Schleichera oleosa</i> L.)	0,021mg/gBB
Dosis 2	Ekstrak daun kesambi (<i>Schleichera oleosa</i> L.)	0,042 mg/gBB
Dosis 3	Ekstrak daun kesambi (<i>Schleichera oleosa</i> L.)	0,084 mg/gBB

3.4.7 Uji in Vivo

3.4.7.1 Perhitungan jumlah sel leukosit dengan apusan darah

Pada hari ke 0, hari ke 4 dan hari ke 8 dibuat preparat apusan darah. Preparat apusan darah dibuat untuk jumlah limfosit mencit. Persentase limfosit dari total 100 sel leukosit dihitung menggunakan rumus menurut (Hartika *et al.*, 2014) :

$$\text{Jumlah Sel} = \frac{\text{Jumlah Jenis Sel}}{100 \text{ sel leukosit}} \times 100\%$$

3.4.7.2 Perhitungan nilai indeks limpa dan timus

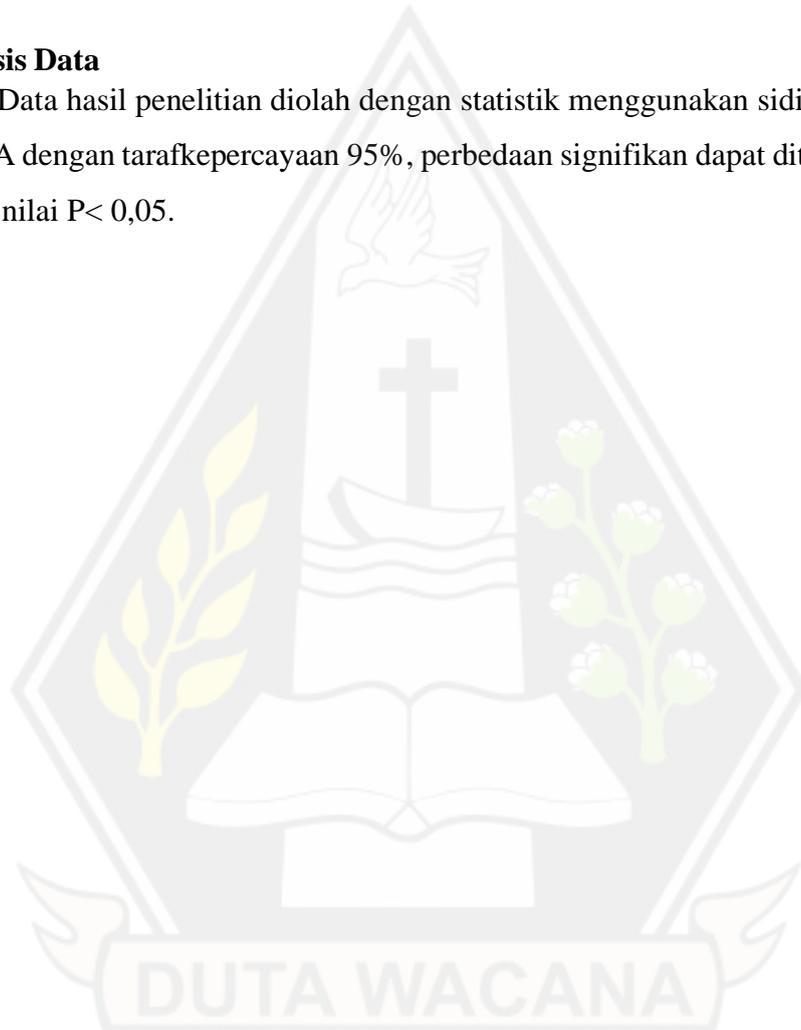
Pada hari ke 8 hewan uji dikorbankan dengan menggunakan klorofom, kemudian dilakukan pembedahan. Mencit dibedah dan diambil organ limpa yang

berada dibagian kiri perut menggunakan pinset secara hati-hati agar tidak merusak organ limpa. Kemudian limpa dibersihkan dari lemak yang menempel dan ditimbang menggunakan timbangan analitik. Organ timus diambil dan ditimbang berat organnya menggunakan timbangan analitik. Indeks organ dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Fatirah dkk., 2019) :

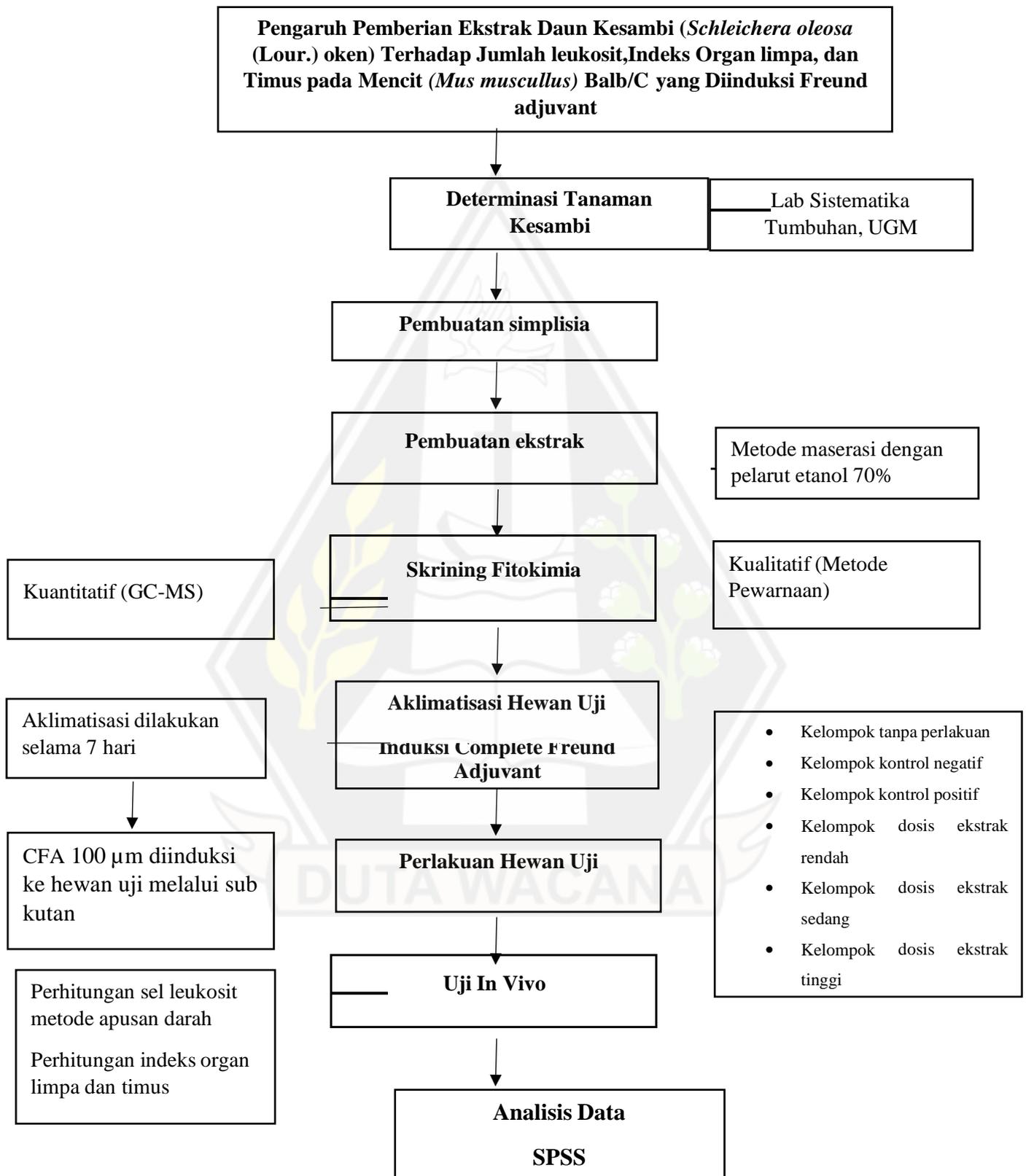
$$\text{Indeks organ} = \frac{\text{berat organ (g)}}{\text{berat badan akhir (g)}} \times 100\%$$

3.4.8 Analisis Data

Data hasil penelitian diolah dengan statistik menggunakan sidik ragam ANOVA dengan taraf kepercayaan 95%, perbedaan signifikan dapat ditunjukkan dengan nilai $P < 0,05$.



3.5 Bagan Alir Penelitian



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Determinasi Kesambi

Determinasi bertujuan untuk membandingkan atau mencocokkan suatu tanaman dengan tanaman lainnya yang sudah diketahui sebelumnya agar tidak terjadi kesalahan dalam menggunakan bahan yang akan diteliti dalam penelitian. Daun kesambi (*Schleichera oleosa* Lour.) oken yang digunakan dalam penelitian dideterminasi di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi, Universitas Gajah Mada. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman kesambi yang digunakan sebagai bahan penelitian dipastikan termasuk dalam jenis *Schleichera oleosa* Lour. Oken Suku Sapindaceae. Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada (**Lampiran 16**) Hasil determinasi sesuai dengan hasil penelitian (Goswamidkk., 2017) yaitu tanaman kesambi termasuk kedalam keluarga sapindaceae, genus *Schleichera*.



Gambar 1. Tanaman Kesambi (*Schleichera oleosa* Lour.) Oken (Sumber dokumentasi pribadi)

4.2 Ekstrak Daun Kesambi (*Schleichera oleosa* Lour.) Oken)

Pada penelitian ini berat bubuk simplisia yang digunakan sebanyak 1300 gram yang dibagi kedalam 2 bejana kaca dengan berat masing-masing 650 gram setiap bejananya kemudian dilarutkan dengan menggunakan pelarut etanol 70%, keunggulan dari menggunakan etanol 70% yaitu dapat mengikat senyawa yang ada pada simplisia lebih banyak, aman, tidak beracun, dan tidak merusak

senyawa yang ada dalam simplisia. Sifat dari pelarut etanol yang merupakan pelarut polar, sehingga dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa yang bersifat polar (Robinson, 2005).



Gambar 2. Hasil ekstrak daun kesambi (*Schleichera oleosa* L.) Oken (*Sumber dokumentasi pribadi*)

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi karena pengerjaannya sederhana, mudah, dan metode ini tidak merusak senyawa target yang ada dalam sampel. Ekstraksi dilakukan selama 5 x 24 jam dengan suhu ruangan 25° C – 35° C. Kemudian hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dengan residunya. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak sehingga mendapatkan ekstrak kental. Evaporasi dilakukan pada 40 rpm pada suhu 40° C. Ekstrak daun kesambi yang dihasilkan berupa ekstrak kental dengan warna coklat kehijauan dengan aroma yang khas. Ekstrak kental yang dihasilkan dari hasil evaporasi sebesar 157 gram, maka rendemen yang diperoleh yaitu sebesar 12%. Rendemen yaitu hasil bagi antara berat ekstrak akhir dengan berat simplisia awal yang dikalikan dengan 100%. Rendemen dapat dikatakan baik dan layak apabila nilainya 10% maka dari itu hasil rendemen ekstrak daun kesambi dapat dikatakan layak karena nilainya 12%.

4.3 Skrining Fitokimia Kualitatif

Pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia kualitatif ekstrak daun kesambi untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin. Berikut merupakan hasil uji fitokimia kualitatif :

Tabel 3. Hasil Uji Skrining Fitokimia Kualitatif Ekstrak Daun Kesambi dengan Metode Pewarnaan

Metabolit Sekunder	Metode Pengujian	Hasil Pengujian
		Ekstrak Daun Kesambi
Alkaloid	Reagen Wagner	+ (Positif)
	Reagen Mayer	+ (Positif)
Flavonoid	Uji Bath-Smith	+ (Positif)
	Uji Will Stater	+ (Positif)
Saponin	Uji Buih	+ (Positif)
Tanin	Periklorida	+ (Positif)

Keterangan : (+) mengandung senyawa yang diuji, (-) tidak mengandung senyawa yang diuji

Identifikasi alkaloid dengan menggunakan pereaksi reagen wagner dan reagen mayer. Pada reagen wagner menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya endapan coklat dan pada reagen mayer menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan putih dan kekeruhan hasil uji senyawa flavonoid sesuai dengan hasil penelitian. Alkaloid mengandung unsur nitrogen (N) yang biasanya ada pada tanaman. Manfaat senyawa alkaloid pada bidang farmakologi yaitu dapat meningkatkan tekanan darah, antibakterial, dan memacu sistem syaraf (Pasaribu, 2009). Menurut Christobed dkk, (2017) senyawa flavonoid dapat berperan dalam peningkatan sel limfosit, eritrosit, dan hemoglobin.

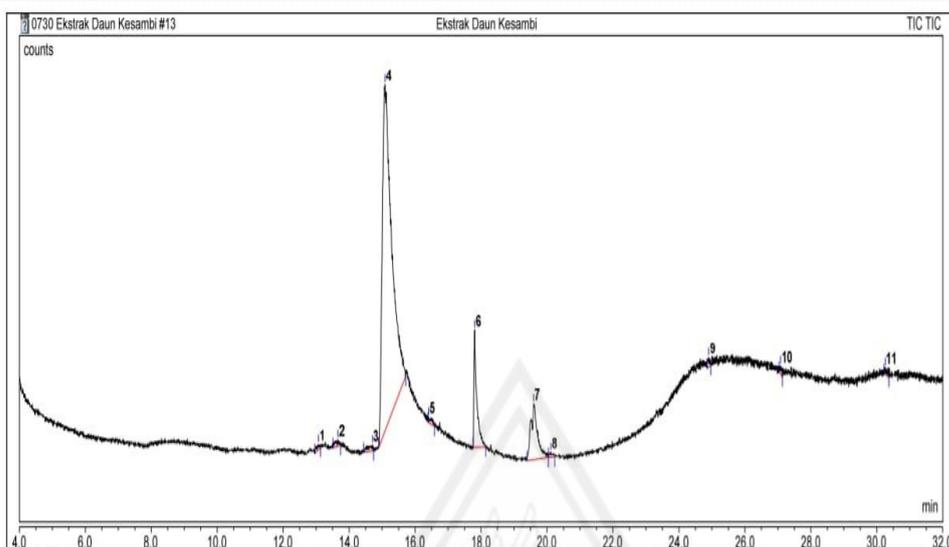
Identifikasi flavonoid menggunakan uji Bath-Smith menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi warna merah terang yang menunjukkan adanya senyawa leukoantosianin dan pada uji Will Stater

menunjukkan hasil positif mengandung flavon yang ditandai dengan perubahan warna merah jingga. Senyawa flavonoid dan alkaloid dapat meningkatkan aktivitas dari interleukin 2 (IL-2) dan proliferasi sehingga kedua senyawa tersebut dapat berperan sebagai imunomodulator (Sholikhah dkk, 2015). Senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan yang tinggi sehingga dapat berperan sebagai imunomodulator. menurut (Haeria dkk, 2017) menyatakan bahwa selain dapat berperan sebagai antioksidan, senyawa flavonoid berperan dalam respon fagositosis yang dengan merangsang sel-sel fagosit.

Identifikasi saponin dilakukan dengan uji buih menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan terjadinya buih yang stabil selama lebih dari 30 menit dengan tinggi buih 1 cm – 3 cm diatas permukaan cairan hal ini sesuai dengan penelitian (Nurzaman dkk, 2018) yang mengatakan bahwa saponin mampu untuk mengurangi tegangan dari permukaan air pada saat digojok sehingga terbentuklah buih. Saponin termasuk kedalam glikosida yang mempunyai aglikon steroid dan triperpenoid yang banyak tersebar ditanaman tingkat tinggi (Yanuartono dkk, 2017). Senyawa saponin memiliki manfaat dalam bidang kesehatan yaitu sebagai antivirus, anti kanker, antimolluska, anti bakteri (Yanuartono dkk, 2017).

Identifikasi tanin dilakukan dengan uji ferriklorida dengan menggunakan pereaksi $FeCl_3$ menunjukkan hasil yang positif dengan ditandai dengan perubahan warna hijau kehitaman. Senyawa tanin dapat berperan sebagai imunomodulator karena senyawa tanin dapat mengoptimalkan fungsi dari sistem imun dengan cara meningkatkan aktifitas fagositosis dari makrofag untuk menghancurkan mikroba yang masuk kedalam tubuh (Bone *et al.*, 2013).

4.4 Skrining Fitokimia Kuantitatif



No	Ret.Time	Hit #1	Hit #2	Hit #3	Rel. Area %
4	15.09	Propanal, 2, 3-dihydroxy	Methyl- α -D-ribofuranoside	α -L-Galactopyranoside	79,35
6	17.81	2, 3 – epoxyhexanol	1,3-Pentenediol,4-Methyl-2	Hexanoic acid,3-ethyl-	7.71
7	19.60	(2S,3S)-(-)-3-Propyloxiranemethanol	2, 3 – epoxyhexanol	Oxirane	9,11

Gambar 3. Hasil analisis GC-MS ekstrak daun kesambi (*Sumber dokumentasi pribadi*)

Tabel 4. Hasil Uji Skrining Fitokimia Kuantitatif Ekstrak Daun Kesambi dengan Metode GC-MS

Dari 14 senyawa yang terdeteksi dari uji GC-MS beberapa senyawa yang memiliki puncak tertinggi dari senyawa lainnya. senyawa pertama yang terdeteksi yakni pada retensi waktu 15.09 menit dengan presentase area terbesar sebesar 79,35% yang merupakan senyawa Propanal, 2, 3- dihydroxy. Senyawa kedua yang terdeteksi yakni 2,3 – epoxyhexanol yang memiliki waktu retensi sebesar 17.81 menit dengan presentase area sebesar 7.71%. senyawa ketiga yang terdeteksi yakni senyawa (2S,3S)-(-)- 3- Propyloxiranemethanol yang memiliki

waktu retensi 19.60 menit dengan presentasi area sebesar 9.11%. senyawa berikutnya yaitu 1H-Cyclopenta[c]furan-3(3aH)-one, 6,6a-dihydro-1-

Senyawa oxirane mengandung oksigen sederhana dan sifat dari senyawa oxirane sebagai antikanker, antiinflamasi, dan immunosupresif. Senyawa oxirane termasuk kedalam zat yang penting dalam sistesis organik. Senyawa 2, 3 – epoxyhexanol berperan sebagai antibakteri dan antioksidan (Songet al., 1998). Senyawa yang memiliki sifat antioksidan dapat berperan sebagai imunomodulator (Kurniasih *et al.*, 2015).

4.4 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kesambi (*Schleichera oleosa* Lour.) oken) Terhadap Jumlah Leukosit dan Indeks Organ

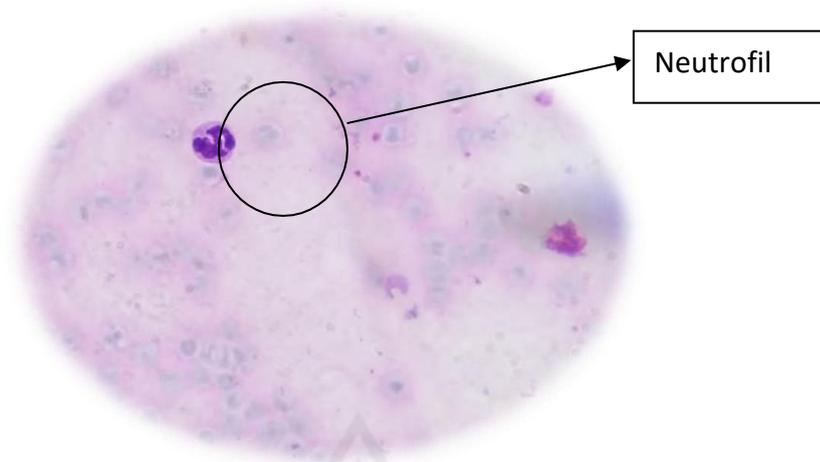
Uji In Vivo digunakan untuk melihat efek dari suatu zat yang terkandung dalam suatu bahan dengan menggunakan bantuan dari hewan uji sebelum diberikan kepada manusia. Pada penelitian ini dilakukan uji In Vivo untuk melihat efek dari bahan yang diberikan kepada mencit jantan galur Balb/C.

4.4.1 Jumlah Leukosit

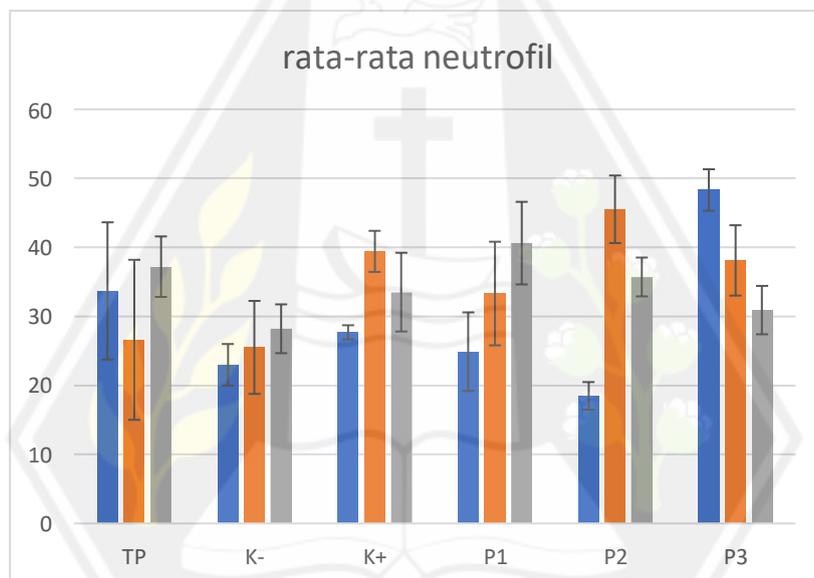
Sel darah putih atau leukosit merupakan sel yang berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh. Fungsi dari sel darah putih dalam tubuh yaitu melawan zat asing yang masuk kedalam tubuh dengan cara memproduksi antibodi untuk melawan antigen yang masuk kedalam tubuh (Effendi Z, 2003). Leukosit terbagi 2 jenis yaitu granulosit (Neutrofil, Basofil, Eosinofil) dan agranulosit (Limfosit dan monosit).

4.4.1.1 Jumlah Neutrofil Mencit yang Diberi Perlakuan Estrak Daun Kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) oken)

Sel neutrofil merupakan sel fagosit yang dapat berpindah kelokasi infeksi, inflamasi maupun kematian sel. Neutrofil memiliki kemampuan untuk melakukan aktivitas fagositosis (Erianto dkk, 2020). Morfologi neutrofil yaitu memiliki inti sel, memiliki sitoplasma berwarna merah muda pucat, memiliki granula halus berwarna ungu, dan memiliki waktu hidup sekitar 1-4 hari ketika berada dalam jaringan (Kiswari, 2014) (Riswanto, 2013).



Gambar 4. Morfologi Sel Neutrofil perbesaran 1000 x (*Sumber dokumentasi pribadi*)



Gambar 5. Jumlah Neutrofil mencit yang diberikan perlakuan ekstrak daun kesambi secara oral dengan metode apusan darah hari ke 0, 4, dan 8. Keterangan : TP (Tanpa Perlakuan); K- (Perlakuan Kontrol Negatif), K+ (Perlakuan Kontrol Positif), P1(Perlakuan Dosis 1= 0,021 mg/gBB), P2 (Perlakuan Dosis 2 = 0,042 mg/gBB), P3 (Perlakuan Dosis 3 = 0,084 mg/gBB).

Berdasarkan data hasil diagram diatas dapat dilihat pengaruh pemberian ekstrak daun kesambi terhadap presentase nilai neutrofil yaitu tanpa perlakuan (TP); Kontrol Negatif (K-); Kontrol Positif (K+); Perlakuan 1 (Dosis rendah = 0,021mg/gBB); Perlakuan 2 (Dosis sedang = 0,042 mg/gBB);Perlakuan 3 (Dosis tinggi = 0,084 mg/gBB) menunjukkan selisih peningkatan dan penurunan yang berbeda-beda. Pada **gambar 5**. Hari ke-0 , kelompok perlakuan K-, K+, dan P1 memiliki selisih nilai neutrofil yang tidak begitu signifikan dibandingkan

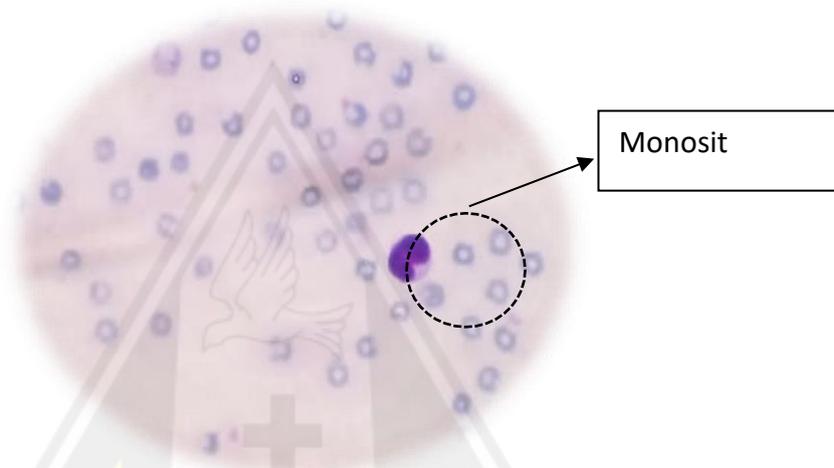
kelompok P2 dan P3 yang memiliki selisih yang signifikan, sedangkan pada hari ke-4 kelompok K-, K+, P1, dan P2 terjadi peningkatan nilai neutrofil yang signifikan sedangkan pada kelompok P3 terjadi penurunan nilai neutrofil, sedangkan pada hari ke-8 terjadi penurunan nilai neutrofil pada kelompok perlakuan kontrol positif, P2, dan P3 sedangkan pada kelompok kontrol negatif dan P1 terjadi peningkatan, serta hasil analisis statistik dengan menggunakan uji non parametrik yaitu uji Kruskal Wallis H pada **Lampiran 11**, didapatkan hasil yaitu pada hari ke-0 (0,013), pada hari ke-4 (0,010), dan hari ke-8 (0,024) yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan $P < 0,05$ karena adanya perbedaan yang signifikan maka, dilanjutkan uji Post Hoc dengan menggunakan Uji Dunn's, dan diperoleh hasil yaitu adanya hubungan antara kelompok tanpa perlakuan dengan perlakuan dosis 3 (0,084 mg/KgBB), kelompok kontrol positif dengan perlakuan dosis 3 (0,084 mg/gBB), dan kelompok perlakuan 2 (0,042 mg/gBB) dengan kelompok perlakuan 3 (0,084 mg/gBB). Berdasarkan hasil analisis statistik yang diperoleh menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak daun kesambi dengan dosis 3 memberikan efek yang baik terhadap gambaran neutrofil mencit.

Sel neutrofil memiliki presentase tertinggi kedua dalam sel darah putih mencit yaitu berkisar antara 10-45% (Fahrimal dkk., 2014). Pada **gambar 5**. Pada hari ke-4 kelompok perlakuan K+, P1, P2 dan P3 mengalami peningkatan jumlah neutrofil hal ini dikarenakan peran dari senyawa saponin yang dapat meningkatkan jumlah neutrofil mencit dengan cara meningkatkan viabilitas neutrofil (Ginting, 2008). Peningkatan neutrofil juga disebabkan oleh peran dari senyawa tanin dengan cara meningkatkan aktifitas fagositosis dari makrofag untuk menghancurkan mikroba yang masuk ke dalam tubuh (Bone *et al.*, 2013). Pada hari ke-8 pada kelompok perlakuan K+, P2 dan P3 rerata neutrofilnya mengalami penurunan hal ini dikarenakan adanya senyawa-senyawa yang terkandung. Peningkatan dan penurunan neutrofil dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, tingkat stres, genetik (Puvadolpirot dan Thaxton, 2000)

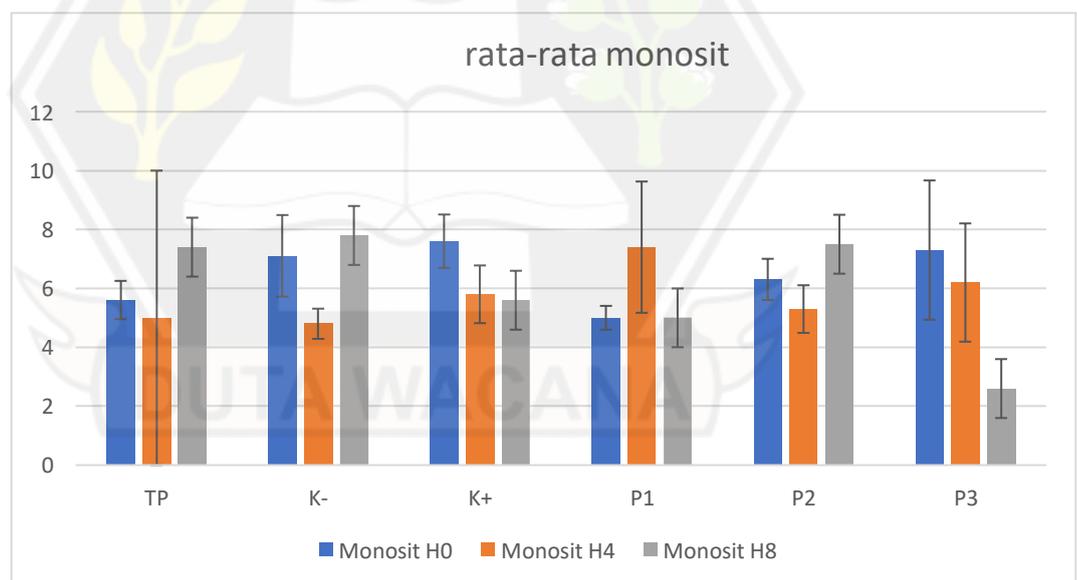
4.4.1.2 Jumlah Monosit Mencit yang Diberi Perlakuan Estrak Daun Kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) oken)

Monosit memiliki ukuran paling besar dari sel leukosit lainnya yaitu 18 μ m, memiliki inti sel yang padat dengan melekok seperti biji kacang merah,

sitoplasma monosit tidak mengandung granula, dengan masa hidup sel monosit sekitar 20-40 jam dalam sirkulasi darah (Effendi, 2003). Sel monosit dapat dijumpai dalam darah, jaringan ikat, dan juga rongga tubuh. Menurut (Kiswari, 2014) sel monosit memiliki jumlah sekitar 1-8% dalam total darah putih sedangkan ada penelitian lain yang menyebutkan bahwa total jumlah sel monosit sekitar 1-10% dari total darah putih.



Gambar 6. Morfologi sel Monosit dengan perbesaran 1000 x (*Sumber dokumentasi pribadi*)



Gambar 7. Jumlah Monosit mencit yang diberikan perlakuan ekstrak daun kesambi secara oral dengan metode apusan darah hari ke 0, 4, dan 8. Keterangan : TP (Tanpa Perlakuan); K- (Perlakuan Kontrol Negatif), K+ (Perlakuan Kontrol Positif), P1(Perlakuan Dosis 1= 0,021 mg/gBB), P2 (Perlakuan Dosis 2 = 0,042 mg/gBB), P3 (Perlakuan Dosis 3 = 0,084 mg/gBB)

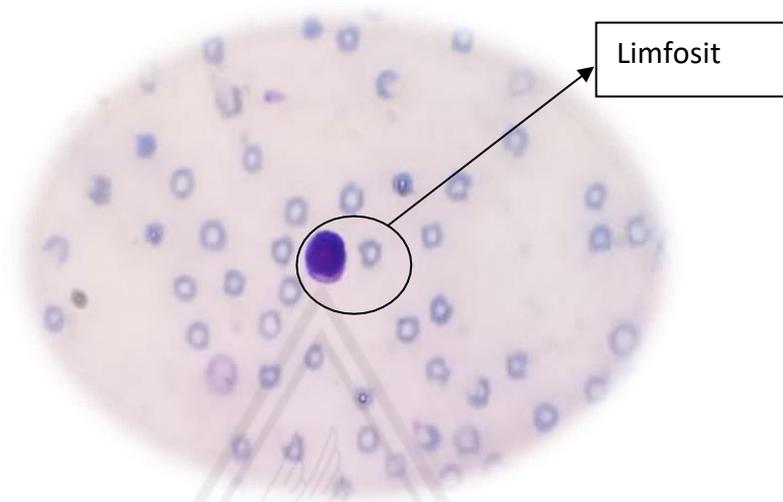
Berdasarkan hasil grafik diatas dapat dilihat pengaruh dari pemberian ekstrak daun kesambi terhadap presentase jumlah monosit yaitu pada tanpa perlakuan (TP); Kontrol Negatif (K-); Kontrol Positif (K+); Perlakuan 1 (Dosis rendah = 0,021mg/gBB); Perlakuan 2 (Dosis sedang = 0,042 mg/gBB);Perlakuan 3 (Dosis tinggi = 0,084 mg/gBB) menunjukkan selisih peningkatan dan penurunan yang berbeda-beda. Pada **Gambar 7** terlihat pada hari ke-0, kelompok Kontrol negatif, Kontrol positif, dan Perlakuan P3 (Dosis tinggi = 0,084 mg/gBB) menunjukkan selisih nilai monosit yang sama, dibandingkan dengan kelompok Tanpa Perlakuan, Perlakuan 1 (Dosis rendah = 0,021mg/gBB); Perlakuan 2 (Dosis sedang = 0,042 mg/gBB) yang memiliki selisih nilai monosit yang sama. Pada hari ke-4 kelompok Kontrol Negatif (K-), Kontrol Positif (K+), Perlakuan 2 (Dosis sedang = 0,042 mg/KgBB) mengalami penurunan sedangkan pada kelompok Perlakuan 1 (Dosis rendah= 0,021 mg/KgBB) mengalami peningkatan nilai monosit. Pada hasri ke-8 kelompok perlakuan Kontrol Negatif dan Perlakuan 2 (Dosis sedang = 0,042 mg/gBB) peningkatan nilai monosit dibandingkan dengan kelompok perlakuan Kontrol Positif, Perlakuan 1 (Dosis rendah= 0,021 mg/gBB), dan Perlakuan 2 (Dosis sedang = 0,042 mg/gBB) yang mengalami penurunan. Hasil analisis statistik dengan menggunakan uji non parametrik yaitu Kruskal Wallis H pada **Lampiran 12** didapatkan hasil yaitu pada hari ke-0 (0,183), pada hari ke-4 (0,167), dan pada hari ke-8 (0,174) yang artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan $P > 0,05$ sehingga tidak dilanjutkan Uji Post Hoc.

Pada gambar 7 rerata presentase sel monosit tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P > 0,05$), rerata sel monosit masih dalam kisaran normal. Menurut (Kiswari, 2014) jumlah normal sel monosit dalam sel darah putih mencit berkisar antara 0-10%. Sel monosit terbentuk di sumsum tulang belakang yang kemudian akan mengalami pendewasaan atau pematangan menjadi makrofag (Suhermanto, 2011). Fungsi sel monosit dalam memfagositosis mikroorganisme yang masuk.

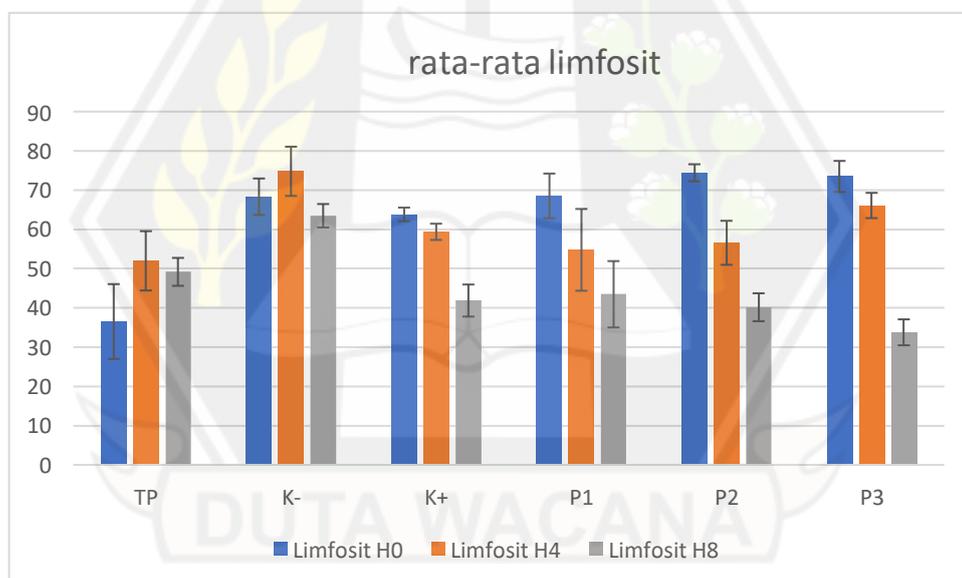
4.4.1.3 Jumlah Monosit Mencit yang Diberi Perlakuan Estrak Daun Kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) oken)

Limfosit memiliki jumlah yang paling banyak dalam sel darah putih setelah neutrofil yaitu dengan jumlah sekitar 30-45%. Morfologi sel limfosit

yaitu ukurannya antara 8-10 μm , memiliki nukleus yang bulat, memiliki sitoplasma yang sedikit, berwarna biru dan bergranula.



Gambar 8. Morfologi sel Limfosit dengan perbesaran 1000 x (*Sumber dokumentasi pribadi*)



Gambar 9. Jumlah Limfosit mencit yang diberikan perlakuan ekstrak daun kesambi secara oral dengan metode apusan darah hari ke 0, 4, dan 8. Keterangan : TP (Tanpa Perlakuan); K- (Perlakuan Kontrol Negatif), K+ (Perlakuan Kontrol Positif), P1(Perlakuan Dosis 1= 0,021 mg/gBB), P2 (Perlakuan Dosis 2 = 0,042 mg/gBB), P3 (Perlakuan Dosis 3 = 0,084 mg/gBB)

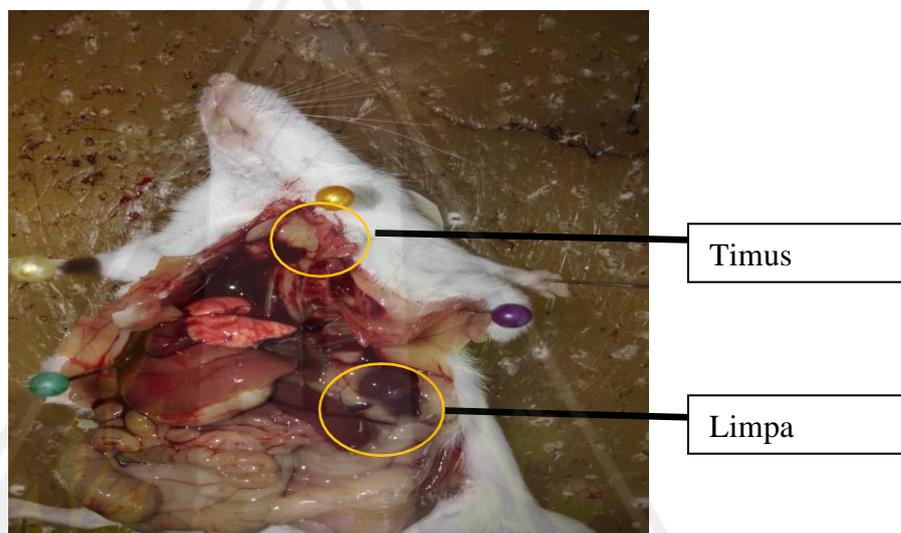
Berdasarkan hasil diagram diatas dapat dilihat pengaruh pemberian ekstrak daun kesambi terhadap nilai limfosit yaitu TP (Tanpa Perlakuan); K- (Perlakuan Kontrol Negatif), K+ (Perlakuan Kontrol Positif), P1(Perlakuan

Dosis 1= 0,021 mg/KgBB), P2 (Perlakuan Dosis 2 = 0,042 mg/KgBB), P3 (Perlakuan Dosis 3 = 0,084 mg/KgBB). pada **Gambar 9** terjadi peningkatan pada hari ke-0 pada kelompok perlakuan K- (Perlakuan Kontrol Negatif), K+ (Perlakuan Kontrol Positif), P1(Perlakuan Dosis 1= 0,021 mg/gBB), P2 (Perlakuan Dosis 2 = 0,042 mg/gBB), P3 (Perlakuan Dosis 3 = 0,084 mg/gBB) dengan selisih nilai yang tidak begitu berbeda jauh dibandingkan dengan kelompok Tanpa Perlakuan, sedangkan pada hari ke-4 terjadi penurunan nilai limfosit pada kelompok K- (Perlakuan Kontrol Negatif), K+ (Perlakuan Kontrol Positif), P1(Perlakuan Dosis 1= 0,021 mg/KgBB), P2 (Perlakuan Dosis 2 = 0,042 mg/gBB), P3 (Perlakuan Dosis 3 = 0,084 mg/gBB) dan kelompok Tanpa Perlakuan mengalami peningkatan sedangkan pada hari ke-8 mengalami penurunan nilai limfosit pada kelompok K+ (Perlakuan Kontrol Positif), P1(Perlakuan Dosis 1= 0,021 mg/KgBB), P2 (Perlakuan Dosis 2 = 0,042 mg/gBB), P3 (Perlakuan Dosis 3 = 0,084 mg/gBB), sedangkan kelompok Kontrol Negatif tidak mengalami penurunan maupun peningkatan dibandingkan dengan kelompok Tanpa Perlakuan yang mengalami peningkatan. Berdasarkan hasil analisis statistik dengan menggunakan uji non parametrik yaitu Kruskal Wallis H pada **Lampiran 13** didapatkan hasil bahwa pada hari ke-0 (0,023), pada hari ke-4 (0,020), dan pada hari ke-8 (0,019) yang artinya bahwa terdapat perbedaan yang signifikan $P < 0,05$ karena adanya perbedaan yang signifikan maka, dilanjutkan uji Post Hoc dengan menggunakan Uji Dunn;s dan diperoleh hasil yaitu adanya hubungan antara kelompok tanpa perlakuan dengan perlakuan dosis 3 (0,084 mg/gBB), kelompok tanpa perlakuan dengan perlakuan dosis 2 (0,042 mg/gBB). Berdasarkan hasil analisis statistik yang diperoleh, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak daun kesambi dengan dosis 3 dan dosis 2 memberikan efek yang baik terhadap penurunan jumlah limfosit mencit.

Pada kelompok P1, P2 dan P3 terjadi penurunan jumlah rerata limfosit setelah diberikan ekstrak selama 8 hari. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Rio dkk, 2013) bahwa senyawa flavonoid dapat menghambat sintesis eikosanoid melalui penurunan kandungan asam arakidonat yang ada pada jaringan membran fosfolipid sel yang menyebabkan terhambatnya pelepasan mediator inflamasi salah satunya yaitu prostaglanin, leukotrin, dan

tromboksen. Penghambatan jalur prostaglanin oleh senyawa flavonoid dapat menurunkan jumlah vasodilatasi dan aliran darah lokal yang menyebabkan migrasi leukosit ke tempat inflamasi (Hämäläinen *et al*, 2011). Senyawa flavonoid dapat mencegah stres oksidatif dengan cara senyawa flavonoid menyumbangkan elektron kepada senyawa radikal bebas sehingga reaksi menjadi stabil. Senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak daun kesambi dapat berperan sebagai imunomodulator dengan cara melawan bakteri atau mikroorganisme asing yang masuk ke dalam tubuh (Winarti, 2013).

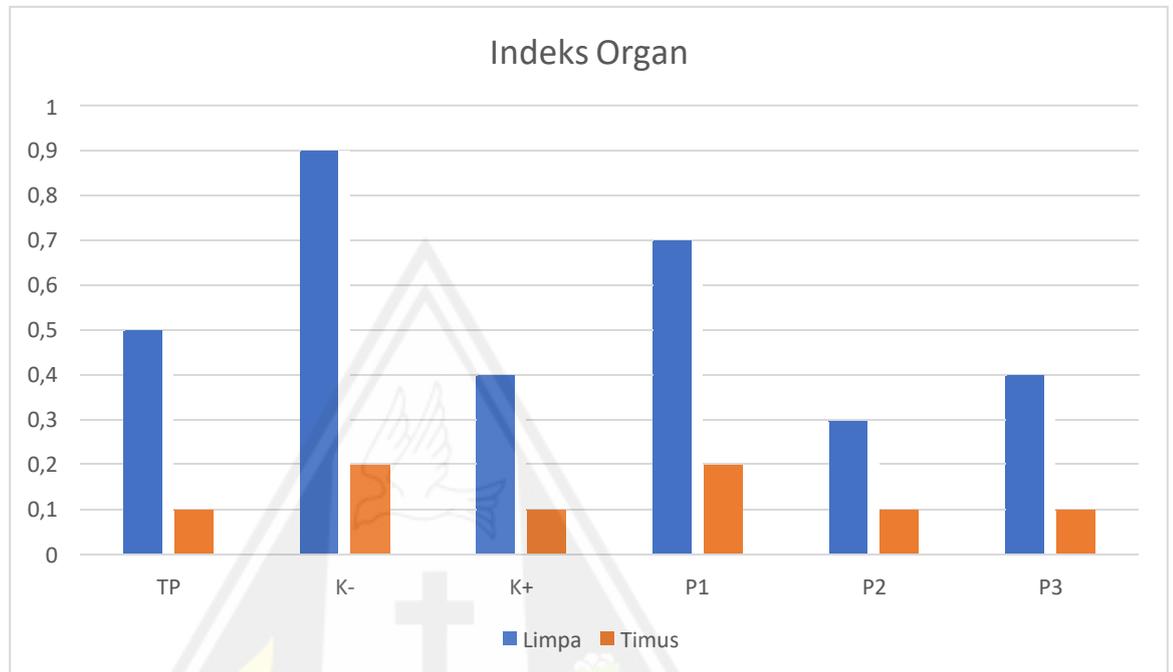
4.4.2 Indeks Organ



Gambar 10. Morfologi Organ Limpa dan Timus Mencit (*sumber dokumentasi pribadi*)

Dalam penelitian ini organ yang diamati yaitu organ timus dan limpa. Limpa termasuk ke dalam organ limfoid terbesar yang mempunyai peran yang sangat penting dalam sistem imun. Peran lain dari limpa seperti filtrasi eritrosit, membersihkan sel-sel darah merah yang sudah tidak dapat berfungsi lagi atau sel darah merah yang sudah tua dan *reservoir* platelet darah. Maka dari itu limpa merupakan organ yang sangat penting karena memiliki peran dalam pertahanan antigen dalam darah (Setiawan dkk, 2016). Limpa terletak di sebelah kiri rongga perut tepatnya limpa terletak dibelakang lambung dengan warna merah keunguan. Timus merupakan salah satu organ limfoid yang berperan dalam memproduksi sel-sel leukosit. Timus terletak dibelakang tulang dada, di

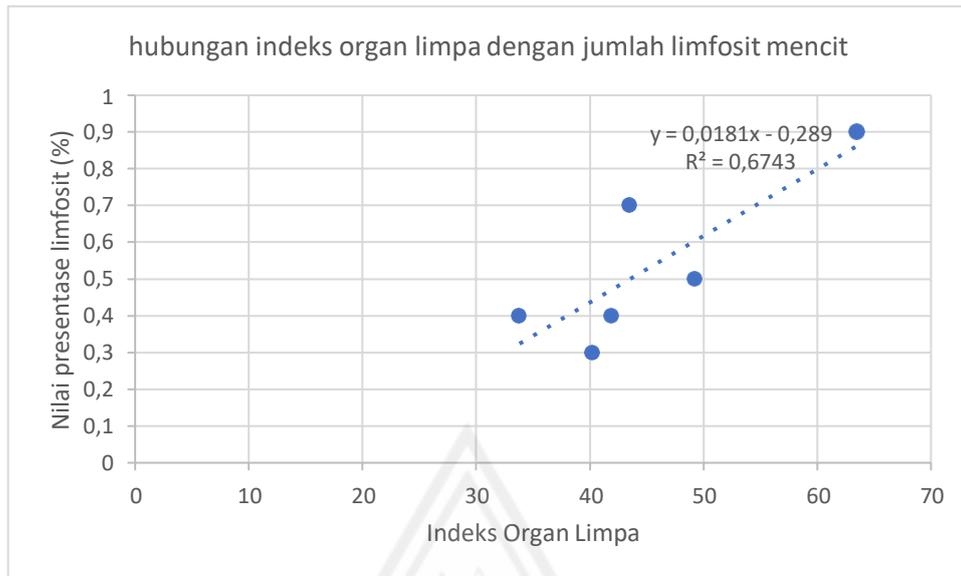
depan jantung dengan bentuk pipih dan memiliki dua lobus yang yang dikelilingi oleh kapsul fibrosa dan timus berwarna putih. Timus mengandung banyak sel limfosit (Kresno, 2001).



Gambar 11. Indeks organ limpa dan timus mencit yang diberikan perlakuan ekstrak daun kesambi secara oral dengan metode apusan darah hari ke 0, 4, dan 8. Keterangan : TP (Tanpa Perlakuan); K- (Perlakuan Kontrol Negatif), K+ (Perlakuan Kontrol Positif), P1(Perlakuan Dosis 1= 0,021 mg/gBB), P2 (Perlakuan Dosis 2 = 0,042 mg/gBB), P3 (Perlakuan Dosis 3 = 0,084 mg/gBB)

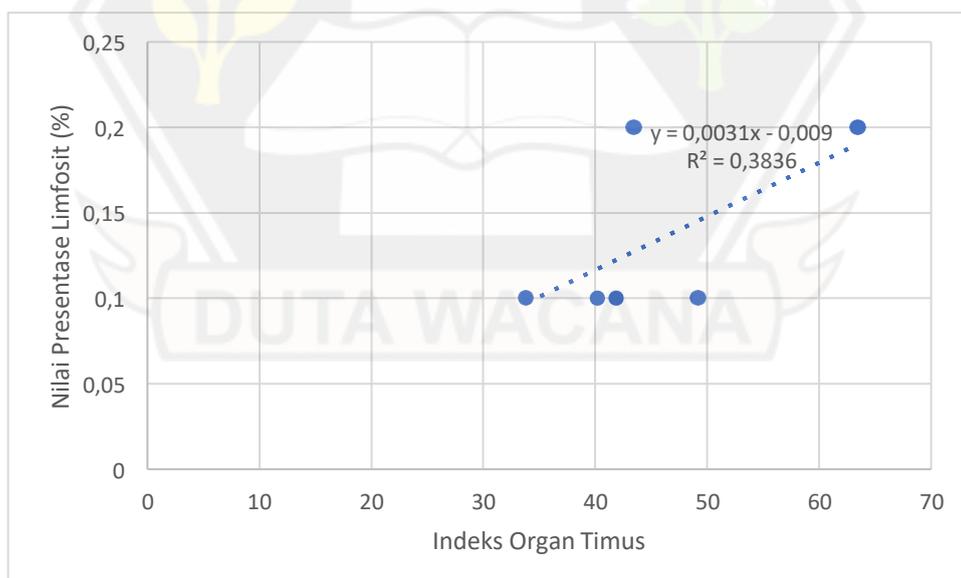
Pada hasil diagram indeks organ diatas dapat dilihat rata-rata indeks organ limpa mencit jantan berkisar antara 0,3 – 0,9 dan rata-rata indeks organ timus berkisar antara 0,1 – 0,3. Nilai tertinggi indeks limpa ditunjukkan pada perlakuan Kontrol Negatif (K-) dan nilai tertinggi indeks organ timus ditunjukkan pada kontrol Negatif (K-) dan Perlakuan 1 (Perlakuan Dosis 1= 0,021 mg/gBB). Ketika terjadi inflamasi, antigen akan masuk melalui aliran darah kedalam limpa dan akan merangsang pertahanan tubuh oleh limpa hal itu yang menyebabkan kerja limpa semakin berat mengakibatkan limpa menjadi besar (Miera *et al.*, 2008). Peningkatan berat limpa selalu berbanding lurus dengan peningkatan leukosit dengan arti bahwa semakin berat organ limpa maka semakin banyak limfosit yang terkandung dalam limpa (Nugroho, 2018).

4.4.3 Hubungan Jumlah Limfosit dengan Indeks Organ Limpa



Gambar 12. Grafik hubungan indeks organ limpa dengan jumlah limfosit menci

Berdasarkan hasil analisis menggunakan regresi linear sederhana pada gambar 12 diperoleh koefisien determinasi sebesar 0,6743, yang berarti bahwa pengaruh indeks limpa terhadap jumlah limfosit adalah sebesar 67,43%. Nilai signifikan yang diperoleh dari hasil uji regresi linear sederhana menggunakan SPSS sebesar 0,045 ($P < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh berat organ limpa terhadap jumlah limfosit menci



Gambar 13. Grafik hubungan indeks organ timus dengan jumlah limfosit menci

Berdasarkan hasil analisis menggunakan linear sederhana pada gambar 13 diperoleh koefisien determinasi sebesar 0,3836 yang berarti bahwa pengaruh indeks timus terhadap jumlah determinasi sebesar 38,36%. Nilai signifikan yang diperoleh berdasarkan uji regresi sederhana menggunakan SPSS sebesar 0,190 ($P > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa indeks timus tidak berpengaruh terhadap jumlah limfosit.

Indeks organ limpa dan timus memiliki peran dalam sistem imun terutama terhadap sel darah putih. Organ limpa menampung sel limfosit karena menjadi tempat peremajaan sel limfosit sehingga, peningkatan berat organ limpa berbanding lurus dengan peningkatan jumlah limfosit, dan peningkatan limfosit diindikasikan dengan bertambah berat organ limpa (Nugroho, 2018) dan berdasarkan (Makiyah, 2014) semakin meningkatnya sel limfosit, sel darah merah, sel darah putih, dan sel makrofag maka berat organ limpa juga terjadi peningkatan. Organ timus selain berfungsi dalam menghasilkan sel leukosit, timus juga menjadi tempat perpindahan sel limfosit dari sumsum tulang belakang ke kelenjar timus. Sehingga jika tubuh terpapar oleh suatu zat asing maka produksi dari sel leukosit juga akan meningkat untuk melawan zat asing yang masuk. Sehingga indeks organ limpa dan timus mempunyai pengaruh terhadap jumlah limfosit.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

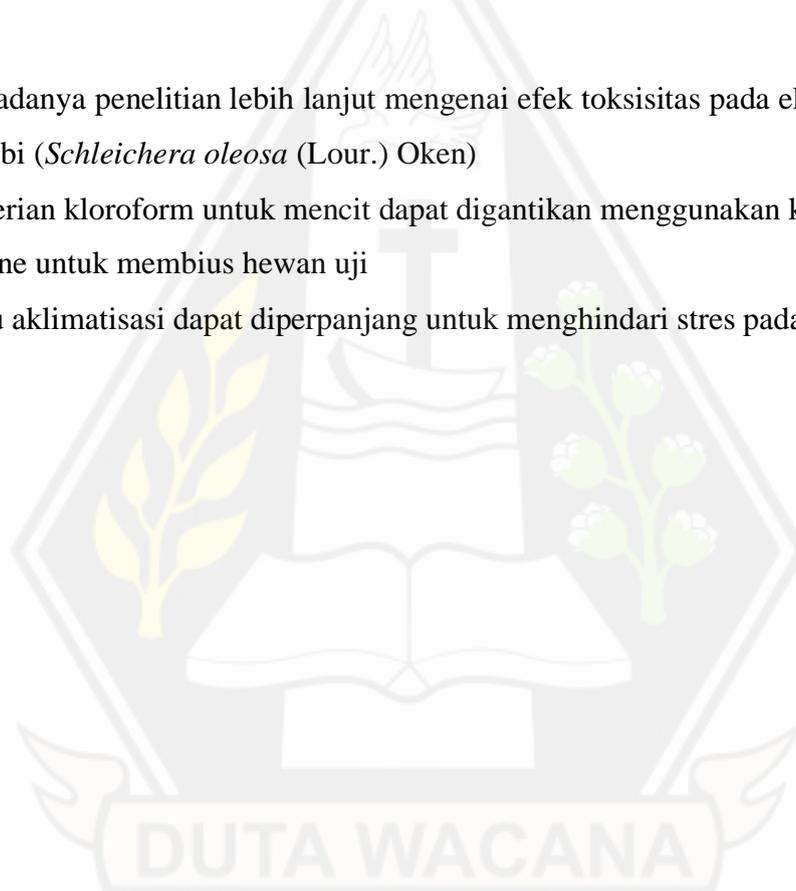
- 1) Ekstrak daun kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) Oken) mengandung senyawa fitokimia yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang dideteksi menggunakan uji kualitatif dengan menggunakan metode pewarnaan, dan untuk uji kuantitatif menggunakan metode GC-MS terdeteksi 3 senyawa yang memiliki

puncak tertinggi yaitu Propanal, 2, 3- dihydroxy, 2, 3 – epoxyhexanol, dan (2S,3S)-(-)- 3- Propyloxiranemethanol.

- 2) Pemberian ekstrak daun kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) Oken) secara oral memberikan pengaruh terhadap jumlah leukosit dan indeks organ limpa dan timus mencit dengan ditandai dengan adanya penurunan jumlah neutrofil, monosit, dan limfosit mencit
- 3) Dosis ekstrak daun kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) Oken) yang efektif dapat menurunkan jumlah leukosit mencit dan indeks organ limpa dan timus pada mencit galur Balb/C yang diinjeksi dengan Complete Freund Adjuvant yaitu dosis 3 (0,084 mg/gBB)

5.2 Saran

- 1) Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai efek toksisitas pada ekstrak daun kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) Oken)
- 2) Pemberian kloroform untuk mencit dapat digantikan menggunakan ketamin dan xylazine untuk membius hewan uji
- 3) Waktu aklimatisasi dapat diperpanjang untuk menghindari stres pada hewan uji



DAFTAR PUSTAKA

Aripin, Ipin. (2019). Pendidikan Pada Nilai Materi Konsep Pada Sistem Imun. Jurnal Bio Educatio

- Arrington, L. (1972). *Introductory Laboratory Animal Science, The Breeding, Care And Management Of Experimental Animal*. The Interstate Printers and Publishers
- Erniati dan Ezraneti Riri. (2020). Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Rumput Laut. *Aquatic Sciences Journal*
- Ezraneti, E. dan R. (2020). Immunomodulator activities in Seaweed Extract. *Acta Aquatica*, 2,79–86.
- Fahrimal Y., Eliawardani., Rafina., Azhar A., & Asmilia N. (2014). Profil Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi* Dan Diberikan ekstrak Kulit Batang Jaloh (*Salix tetrapermaroxb*). *J Kedokteran Hewan*, 8(2), 164-168.
- Fox, S. I. (2008). *Human Physiology Tenth Edition*. New Yor:McGraw-hill
- Gangaplara, A., Massilamany, C., Lasrado, N., Steffen, D., & Reddy, J. (2020). Evidence for anti-viral effects of complete freund’s adjuvant in the mouse model of enterovirus infection. *Vaccines*, 8(3), 1–9.
- Goswami, S. (2017). Ayurvedic, Phytochemical and Pharmacological Review of *Schleicheria Oleosa* (Lour.) Oken: a Traditional Plant With Enormous Biological Activity. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 295–309.
- Hartika,R., Mustahal, dan Putra,AN. (2014). Gambaran Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)dengan Penambahan Dosis Prebiotik yang Berbeda dalam Pakan. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 4(1), 459-267.
- Hernani, Mawarti. T, Winarti. C. 2007. Pemilihan Pelarut pada Pemurnian Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga*) secara Ekstrasi. *Pasca panen* 4(1): 1-8.
- Ihsan, Bachtiar, R.P. 2018. Validasi Metode Ultra High Performance Chromatography Double Mass Spectrometry (UHPLC-MS/MS) untuk Analisis Kurkumin pada Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma longa*) dengan Berbagai Perbandingan: *Pharmaceutical Journal Of Indonesia*. Vol. 4(1): 29-34.
- Irianto Koes. (2012). *Anatomi dan Fisiologi*. Alfabet
- Iwasaki, A., & Medzhitov, R. (2015). Control of adaptive immunity by the innate immunesystem. *Nature Immunology*, 16(4), 343–353.
- Jose, S., & Sinha, M. P. (2018). A comparative Analysis of Antioxidant capacity of aqueous andmethanolic leaf extracts of *Scoparia dulcis* and *Schleicheria oleosa*. *Balneo Research Journal*, 9(3), 221–227.
- Kiswari, R. (2014). *Hematologi dan Transfusi*. Penerbit Erlangga.
- Kresno, S. B. (2007). *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi IV. Universitas Indonesia
- Luhurningtyas, F. P., Dyahariesti, N., & M, S. F. E. (2020). Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Biji Karika (*Carica pubescens* Lenne K. Koch) terhadap Peningkatan Aktivitas Fagositosispada Mencit Putih Swiss Webster. *Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal (PBSJ)*, 2(1), 27–34.
- Malelak, G. E. M., Sipahelut, G. M., Lestari, G. A. Y., & Raga Lay, M. (2019). Pengolahan Se’IBabi Pada Kelompok Darma Wanita Di Lingkungan Pemda Sabu Raijua. *Jurnal PengabdianMasyarakat Peternakan*, 4(1).
- Pawoko E. (2009). Pengaruh Tahap Proses Esterifikasi, Transesrefikasi, dan Netralisasi

Terhadap Karakteristik Biodisel Dari Biji Kesambi. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.

- Prakoewa, F.R. (2020). Peranan Sel Limfosit Dalam Imunologi Artikel Review. *Jurnal Sains dan Kesehatan*.
- Suita, & Syamsuwida. (2016). Pengaruh pengeringan terhadap viabilitas benih malapari (. *Jurnal Perbenihan Tanaman Hutan*, 4(1), 9–16.
- Situmehang, B., Nuraeni, W., Ibrahim, A. M., & Silaban, S. (2016). Analysis of Secondary Metabolite Compounds from Leaves Extract Kesambi (*Schleichera oleosa*) and Antioxidant Activity Test. *Pendidikan Kimia*
- Suckow, M. A., Danneman, P. & Brayton, C. (2001). *The Laboratory Mouse*. CRC Press.
- Tamelan, C. S., Madyaningrana, K., & Prakasita, V. C. (2022). the Effect of Kesambi Bark Extract on Mice Lymphocyte Count and Spleen Index. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 8(2), 195–206.
- Tarwoto, W., E . (2007). *Keperawatan Medical Bedah (Gangguan Sistem Persarafan)*. CV. Sagung Seto.
- Zhu, X. Y., Lin, H. M., Xie, J., Chen, S. S. And Wang, P. 2011. Homogenate Extraction Of Isoflavones From Soybean Meal By Orthogonal Design. *Journal Of Scientific And Industrial Research*. Vol. 70 (6): 455-460.
- Zuraidawati, Darmawi, & Sugito. (2019). Jumlah Leukosit dan Eritrosit Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang di beri Ekstrak Etanol Bunga Sirsak (*Annona muricata* L.). *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, 588–5

