



**UJI AKTIVITAS IMUNOMODULATOR EKSTRAK ETANOL
RIMPANG TEMU GIRING (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp)
PADA MENCIT DENGAN METODE BERSIHAN KARBON**

SKRIPSI

Oleh:

Swara Adla Zuhra

NIM 182210101154

BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2022



**UJI AKTIVITAS IMUNOMODULATOR EKSTRAK ETANOL
RIMPANG TEMU GIRING (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp)
PADA MENCIT DENGAN METODE BERSIHAN KARBON**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

Swara Adla Zuhra

NIM 182210101154

BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2022

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayah Drs. Burhanuddin, M.M. dan Mama Dra. Siti Fatimah yang telah membesarkan, mendidik, dan membimbing dengan kasih sayang, cinta, doa, kesabaran, kerja keras, motivasi, nasihat, dan dukungan baik berupa materil maupun moril kepada penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan;
2. Kakak Swara Mega Hasanah dan Adik Swara Muhammad Wildan Qadr yang selalu ada saat senang maupun sedih, selalu mendengarkan keluh kesah, dan selalu memberikan semangat, motivasi, serta dukungan kepada penulis;
3. Keluarga besar alm. Moh. Soeli dan alm. H. Mustamin yang selalu mendoakan penulis;
4. Guru-guruku sejak Taman Kanak-Kanak sampai dengan Perguruan Tinggi yang telah memberikan ilmunya kepada penulis;
5. Teman-teman seperjuangan Farmasi angkatan 2018 “Phosporus”;
6. Almamter tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember

MOTO

“Agama tanpa ilmu adalah buta. Ilmu tanpa agama adalah lumpuh”

(Albert Einstein)

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.”

(QS: Al Baqarah 216)

“Apa yang melewatkanmu tidak akan pernah menjadi takdirmu, dan apa yang ditakdirkan untukmu tidak akan melewatkanmu.”

(Umar bin Khattab)

“Don’t compare yourself with anyone in this world, if you do so, you are insulting yourself”

(Bill Gates)

“Hanya ada dua pilihan untuk memenangkan kehidupan: keberanian atau keikhlasan. Jika tidak berani, ikhlaslah menerimannya. jika tidak ikhlas, beranilah mengubahnya”

(Lenang Manggala)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Swara Adla Zuhra

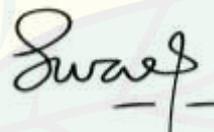
NIM : 182210101154

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Uji Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp) Pada Mencit dengan Metode Bersihan Karbon" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 25 Januari 2022

Yang menyatakan,



Swara Adla Zuhra

NIM 182210101154

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS IMUNOMODULATOR EKSTRAK ETANOL RIMPANG
TEMU GIRING (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp) PADA MENCIT
DENGAN METODE BERSIHAN KARBON**

Oleh:

Swara Adla Zuhra

NIM 182210101154

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. apt. Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., M.Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Fransiska Maria Christianty, S.Farm.,M.Farm.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp) Pada Mencit dengan Metode Bersihan Karbon” karya Swara Adla Zuhra telah diuji dan disahkan pada:

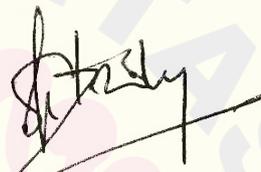
hari, tanggal : 25 Januari 2022

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,



Dr. apt. Fifteen A. F., S.Farm., M.Farm
NIP 198204152006042002

apt. Fransiska M. C., S.Farm., M.Farm
NIP 198404062009122008

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II



apt. Ika Puspita D., S.Farm., M.Biomed
NIP 198406132008122001

apt. Nia K., S.Farm., M.Farm.
NIP 198204062006042001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



Dr. apt. Nuri, S.Si., M.Si.
NIP 196904122001121007

RINGKASAN

Uji Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana* Valeton & Zijp) Pada Mencit dengan Metode Bersihan Karbon: Swara Adla Zuhra: 182210101154; 2021; 115 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Sistem imun adalah kumpulan mekanisme kompleks yang terjadi di dalam tubuh sebagai respon terhadap adanya zat asing atau infeksi yang masuk. Ada dua macam sistem imun, yaitu sistem imun bawaan dan sistem imun adaptif. Kelainan pada sistem imun, seperti penyakit autoimun, gangguan imunodefisiensi, dan reaksi hipersensitivitas disebabkan karena adanya respon imun yang tidak terkontrol. Penyakit tersebut dapat diatasi dengan penggunaan obat-obatan yang memiliki indikasi sebagai imunomodulator. Imunomodulator adalah obat atau substansi yang bekerja dengan cara memodulasi fungsi dan aktivitas dari sistem imun. Ada tiga macam imunomodulator, yaitu imunoadjuvant, imunostimulan, dan immunosupresan. Penggunaan obat-obatan tersebut dalam jangka waktu panjang dapat menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan, sehingga menyebabkan pengembangan obat yang berasal dari tumbuhan. Salah satu tanaman yang berpotensi untuk dijadikan sebagai imunomodulator adalah temu giring. Temu giring merupakan tanaman dari genus *Curcuma* yang mengandung zat aktif kurkumin. Kurkumin telah banyak dilaporkan untuk imunomodulasi yang kuat, antioksidan, antiinflamasi, dan aktivitas antitumor. Selain kurkumin, temu giring juga mengandung banyak senyawa kimia, seperti minyak atsiri, saponin, flavonoid, tanin, amilum, lemak, damar, dan zat warna kuning.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh aktivitas ekstrak etanol temu giring dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB terhadap nilai indeks fagositosis dan jumlah sel leukosit pada mencit yang diinjeksikan karbon. Mencit sebanyak 25 ekor dibagi secara acak menjadi 5 kelompok yaitu, kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan 3 kelompok uji dengan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Setiap kelompok diberikan sediaan secara peroral selama 6 hari berturut-turut. Kemudian di hari ke-7, suspensi karbon diinjeksikan secara intravena pada bagian ekor mencit. Darah mencit diambil pada menit ke-5 dan 15 setelah penyuntikan karbon. Darah dilisiskan pada 4 mL asam asetat 1% dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Darah pada menit terakhir juga diambil untuk perhitungan jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya hubungan antara peningkatan dosis dengan nilai indeks fagositosis, yaitu semakin besar dosis maka semakin besar pula nilai indeks fagositosis yang dihasilkan. Nilai rata-rata indeks fagositosis pada semua kelompok uji dosis 125, 250, dan 500 mg/kgBB lebih dari satu ($IF > 1$), sehingga menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang temu giring memiliki aktivitas imunostimulan. Berdasarkan uji statistik, nilai indeks fagositosis sel makrofag mencit yang diberi ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 500 mg/kgBB memberikan nilai indeks fagositosis paling besar

dibandingkan dua dosis lainnya dan berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif.

Perhitungan jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil pada semua kelompok uji lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif. Berdasarkan uji statistik, jumlah sel limfosit dan monosit darah tepi mencit yang diberi ekstrak etanol rimpang temu giring pada dosis 500 mg/kgBB paling tinggi dibandingkan dua dosis lainnya dan berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif. Jumlah sel neutrofil tertinggi juga diperoleh dari ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 500 mg/kgBB dan berbeda signifikan dengan ($p < 0,05$) kontrol negatif. Peningkatan jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil pada darah tepi mencit setelah diinjeksikan karbon menunjukkan adanya peningkatan aktivitas fagositosis. Hal ini sebanding dengan peningkatan nilai konstanta dan indeks fagositosis pada metode bersihan karbon, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol rimpang temu giring memiliki aktivitas imunostimulan.



PRAKATA

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala nikmat, rahmat, taufik, serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul: “Uji Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp) Pada Mencit dengan Metode Bersihan Karbon”. Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember, Bapak Dr. apt. Nuri, atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
2. Ibu Fifteen Aprila Fajrin dan Ibu Fransiska Maria Christianty selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga serta perhatiannya untuk memberikan ilmu, bimbingan, dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
3. Ibu Ika Puspita Dewi dan Ibu Nia Kristiningrum selaku Dosen Penguji I dan II yang telah berkenan memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
4. Teknisi Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember;
5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan bimbingan kepada penulis selama menempuh studi;
6. Ayah Burhanuddin, Mama Siti Fatimah, Mbak Rara, Adik Wildan, serta semua keluarga besar yang selalu mendoakan dan mendukung penulis;
7. Teman-teman grup Save Paracetamol, Sambatan, Anak Bu Fifteen, serta semua sahabat dan teman-teman yang selalu bersedia mendengarkan curhatan, memberikan dukungan, semangat, dan kerjasama dalam penelitian ini;
8. Teman-teman angkatan 2018 “Phosporus” khususnya kelas B dan semua pihak yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung;
9. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

Jember, 25 Januari 2022

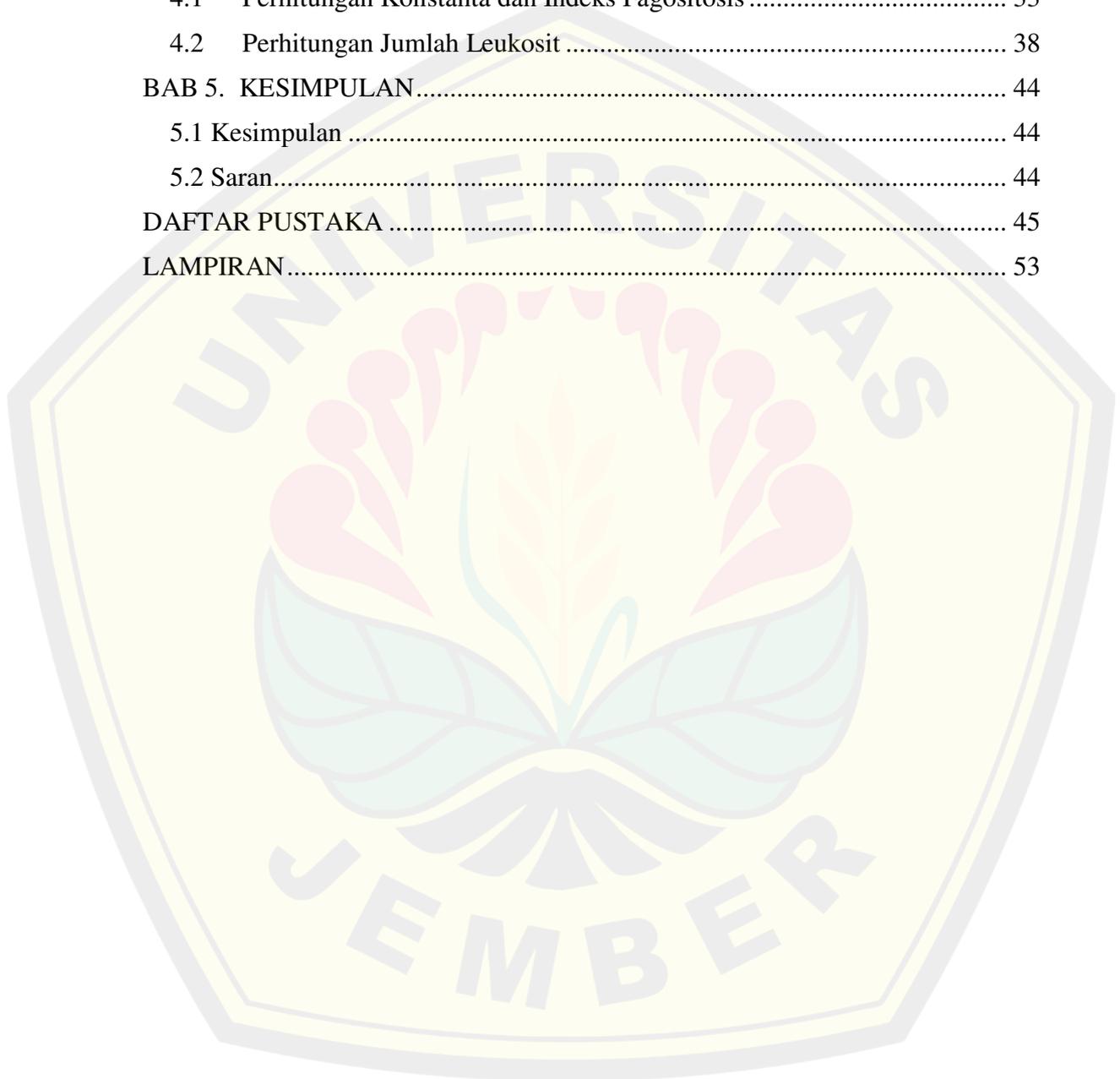
Penulis



DAFTAR ISI

| | |
|--|-----------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| HALAMAN PERSEMBAHAN..... | ii |
| HALAMAN MOTO..... | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN | iv |
| HALAMAN PEMBIMBINGAN..... | v |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | vi |
| RINGKASAN | vii |
| PRAKATA..... | ix |
| DAFTAR ISI..... | xi |
| DAFTAR TABEL..... | xiii |
| DAFTAR GAMBAR | xiv |
| DAFTAR RUMUS..... | xv |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 4 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 4 |
| 1.4 Manfaat Penelitian..... | 5 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| 2.1 Tinjauan Tumbuhan Temu Giring..... | 6 |
| 2.2 Sistem Imun..... | 9 |
| 2.3 Respon Imun..... | 10 |
| 2.4 Tinjauan Tentang Leukosit..... | 12 |
| 2.5 Imunomodulator | 18 |
| 2.6 Metode Pengujian Efek Imunomodulator | 20 |
| 2.7 Tinjauan Obat Stimuno..... | 21 |
| BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN..... | 23 |
| 3.1 Jenis Penelitian | 23 |
| 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian | 23 |
| 3.3 Bahan dan Alat Penelitian | 23 |
| 3.4 Hewan Uji..... | 24 |
| 3.5 Rancangan Penelitian | 25 |
| 3.6 Variabel Penelitian | 26 |

| | | |
|----------------|--|----|
| 3.7 | Definisi Operasional..... | 27 |
| 3.8 | Prosedur Penelitian..... | 27 |
| 3.9 | Pengujian Efek Imunomodulator..... | 29 |
| 3.10 | Analisis Data..... | 31 |
| 3.11 | Skema Penelitian..... | 32 |
| BAB 4. | HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 33 |
| 4.1 | Perhitungan Konstanta dan Indeks Fagositosis | 33 |
| 4.2 | Perhitungan Jumlah Leukosit | 38 |
| BAB 5. | KESIMPULAN..... | 44 |
| 5.1 | Kesimpulan | 44 |
| 5.2 | Saran..... | 44 |
| DAFTAR PUSTAKA | | 45 |
| LAMPIRAN | | 53 |



DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 4.1 Perbandingan hasil rata-rata, SD, dan analisis statistik konstanta fagositosis pada masing-masing kelompok | 34 |
| Tabel 4.2 Perbandingan hasil rata-rata, SD, dan analisis statistik indeks fagositosis pada masing-masing kelompok | 36 |
| Tabel 4.3 Perbandingan jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil pada masing-masing kelompok..... | 40 |

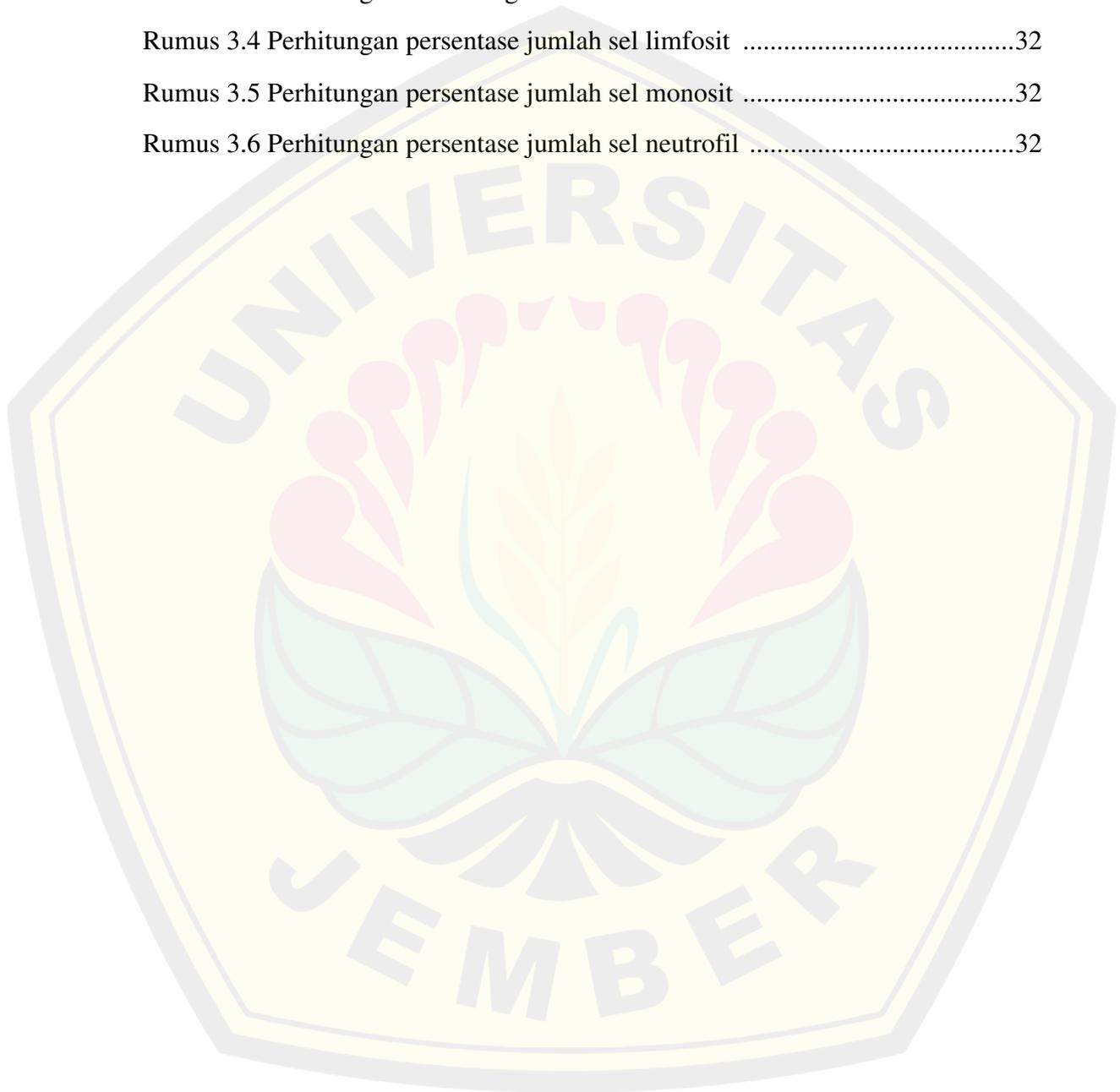


DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2.1 Rimpang temu giring..... | 7 |
| Gambar 2.2 Jenis sel yang terlibat dalam respon imun bawaan dan adaptif..... | 10 |
| Gambar 2.3 Sumsum tulang dan komponen darah | 13 |
| Gambar 2.4 Sel basofil..... | 14 |
| Gambar 2.5 Sel eosinofil..... | 14 |
| Gambar 2.6 Sel neutrofil..... | 15 |
| Gambar 2.7 Sel limfosit | 16 |
| Gambar 2.8 Sel monosit..... | 18 |
| Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian..... | 25 |
| Gambar 3.2 Skema pengujian aktivitas imunomodulator ekstrak etanol rimpang temu giring..... | 32 |
| Gambar 4.1 Gambaran sel limfosit, monosit, dan neutrofil menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x..... | 39 |

DAFTAR RUMUS

| | |
|---|----|
| Rumus 3.1 Perhitungan jumlah hewan uji | 25 |
| Rumus 3.2 Perhitungan konstanta fagositosis | 31 |
| Rumus 3.3 Perhitungan indeks fagositosis | 31 |
| Rumus 3.4 Perhitungan persentase jumlah sel limfosit | 32 |
| Rumus 3.5 Perhitungan persentase jumlah sel monosit | 32 |
| Rumus 3.6 Perhitungan persentase jumlah sel neutrofil | 32 |



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sistem imun adalah kumpulan mekanisme kompleks yang terjadi di dalam tubuh sebagai respon terhadap adanya zat asing atau infeksi yang masuk (Rosales dkk., 2016). Pada saat antigen masuk ke dalam tubuh, sistem imun akan melakukan berbagai proses untuk mencegah, menolak, dan menghancurkan antigen tersebut (Katzung, 2011). Ada dua macam sistem imun, yaitu sistem imun bawaan/*innate* (sistem imun non-spesifik) dan sistem imun adaptif (sistem imun spesifik) (Rosales dkk., 2016). Sistem imun bawaan memberikan respon imunologis pertama dalam melawan mikroorganisme patogen. Respon ini terjadi secara langsung dan cepat, bekerja dalam hitungan menit atau jam setelah agresi, dan tidak memiliki memori imunologis. Sedangkan fungsi utama dari sistem imun adaptif adalah pengenalan antigen "*non-self*" spesifik dan membedakannya dari antigen "*self*", pembentukan jalur efektor imunologik untuk mengeliminasi sel yang terinfeksi patogen, serta pengembangan memori imunologis yang dapat dengan cepat menghilangkan patogen tertentu jika terjadi infeksi berikutnya (Marshall dkk., 2018).

Leukosit merupakan sel yang melakukan pertahanan dan perlindungan terhadap tubuh dengan cara mengidentifikasi, menangkap (fagositosis) dan mengeliminasi sel asing (Rosales dkk., 2016). Fagositosis adalah proses pengenalan dan penelanan mikroorganisme atau debris jaringan yang terakumulasi selama infeksi, inflamasi, atau perbaikan luka (Brown, 1995). Fagositosis melibatkan pengenalan dan pengikatan patogen oleh reseptor pada permukaan sel. Benda asing seperti bakteri atau jamur dapat dibersihkan dari tempat infeksi oleh fagosit profesional seperti neutrofil, makrofag, dan sel dendritik. Sel-sel fagosit memusnahkan patogen dengan penyerangan intraseluler dan digesti. Oleh karena itu, fagositosis berkontribusi pada garis pertahanan pertama dalam melawan infeksi dan memainkan peran kunci dalam inisiasi respon imun adaptif (Flannagan dkk., 2012).

Kelainan pada sistem imun, seperti penyakit autoimun, gangguan imunodefisiensi, dan reaksi hipersensitivitas disebabkan karena adanya respon imun yang tidak terkontrol (Marshall dkk., 2018). Penyakit tersebut dapat diatasi dengan penggunaan obat-obatan yang memiliki indikasi sebagai imunomodulator. Imunomodulator adalah obat atau substansi yang bekerja dengan cara memodulasi fungsi dan aktivitas dari sistem imun. Imunomodulator dibedakan menjadi tiga kelompok, yaitu i) imunoadjuvant yang digunakan untuk meningkatkan kemanjuran vaksin, ii) imunostimulan yang digunakan untuk merangsang aktivitas dan fungsi sistem imun, dan iii) immunosupresan yang digunakan untuk menekan aktivitas sistem imun (Saroj dkk., 2012).

Obat golongan kortikosteroid (glukokortikoid), siklosporin, dan azatioprin merupakan contoh obat immunosupresan yang bekerja dengan cara menghambat kerja sistem imun (Slobbe, 2012). Sedangkan obat lainnya, seperti levasimol, simetidin, dan isoprinosin merupakan contoh obat imunostimulan yang bekerja dengan mengaktivasi sistem imun (Martinus dkk., 2019). Namun, dalam jangka waktu panjang, penggunaan obat-obatan tersebut akan menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan, seperti obat golongan kortikosteroid dapat menyebabkan tukak lambung, osteoporosis, perubahan psikis, atropi otot, serta peningkatan tekanan intraocular (Alexander dkk., 2018).

Akibat dari banyaknya efek yang ditimbulkan tersebut, menyebabkan pengembangan obat yang berasal dari tumbuhan. Obat tradisional semakin menarik minat masyarakat sebagai alternatif dari obat-obatan kimia atau sintetis. Sejauh ini sudah banyak penelitian yang menguji aktivitas imunomodulator dari bahan tumbuhan. Meniran (*Phyllanthus niruri* L.), echinaceae (*Echinacea purpurea*), mengkudu (*Morinda citrifolia*), dan sambiloto (*Andrographis paniculata*) merupakan tumbuhan yang telah terbukti memiliki aktivitas imunomodulator (Muthia dan Astuti, 2018). Pengujian aktivitas imunomodulator yang dilakukan oleh Kusmardi dkk. (2007) menyebutkan bahwa secara farmakologis ekstrak daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) dapat meningkatkan aktivitas fagositosis dari sel makrofag.

Selain tanaman yang disebutkan di atas, tanaman dari keluarga Zingiberaceae memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen imunomodulator. Tanaman dari suku ini diketahui tersebar luas di daerah yang memiliki iklim tropis seperti Asia. Masyarakat Asia Tenggara banyak menggunakan tanaman dari suku Zingiberaceae sebagai bumbu masak dan obat-obatan (Zahara dkk., 2018). Sedangkan oleh masyarakat Indonesia, tanaman dari suku ini digunakan untuk mengatasi masalah pencernaan, demam, sakit tenggorokan, bengkak, dan lainnya (Hidayah dkk., 2020).

Hasil dari penelitian yang dilakukan oleh Hidayah dkk. (2020) ditemukan sebanyak 25 jurnal yang membahas tanaman dari suku Zingiberaceae yang memiliki aktivitas sebagai immunosupresan dan immunostimulan, diantaranya yaitu *Curcuma kwangsiensis*, *Curcuma longa* Linn (kunyit), dan *Zingiber officinale* Roxb (jahe). Banyaknya komponen yang terkandung dalam tanaman tersebut menyebabkan tanaman ini memiliki aktivitas sebagai immunosupresan dan immunostimulan. Salah satu komponen penting dari genus curcuma yang berperan dalam imunomodulator adalah senyawa kurkumin. Kurkumin telah banyak dilaporkan untuk imunomodulasi yang kuat, antioksidan, antiinflamasi, dan aktivitas antitumor (Yuandani dkk., 2021).

Salah satu tumbuhan dari genus *Curcuma* yang mengandung zat aktif kurkumin adalah temu giring (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp). Pada penelitian sebelumnya, telah dilaporkan bahwa konstituen utama *C. heyneana* adalah kurkuminoid dan seskuiterpen (Diastuti dkk., 2014). Temu giring merupakan tanaman khas asli Indonesia yang mengandung banyak senyawa kimia, seperti minyak atsiri, saponin, flavonoid, tanin, amilum, lemak, damar, dan zat warna kuning (Yustin dan Wijayanti, 2018). Pemanfaatan rimpang temu giring sebagai komoditas tanaman obat memiliki kontribusi yang rendah, yaitu dibawah 5%, dibandingkan dengan rimpang kunyit yang memiliki kontribusi produksi lebih besar, yaitu 18,82% (Jalil, 2019). Khasiat dari rimpang temu giring belum banyak diteliti, sehingga dibutuhkan penelitian lebih lanjut terhadap potensi yang dimilikinya.

Penelitian yang dilakukan oleh Rahmi (2011) menyebutkan bahwa rimpang temu giring memiliki efek imunostimulan dengan meningkatkan respon hipersensitivitas tipe lambat dan titer antibodi sel imun mencit jantan. Oleh sebab itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut terkait aktivitas imunomodulator dari rimpang temu giring terhadap indeks fagositosis dan jumlah sel leukosit mencit dengan metode bersihan karbon. Metode bersihan karbon merupakan metode yang dilakukan dengan menginjeksikan karbon (sebagai antigen) secara intravena untuk melihat kemampuan fagositosis dari sistem imun. Adanya proses fagositosis yang dilakukan oleh sel-sel leukosit terutama monosit, makrofag, dan neutrofil menyebabkan jumlah karbon dalam darah berkurang seiring pertambahan waktu (Rahman dkk., 2016).

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini, yaitu:

1. Bagaimana nilai indeks fagositosis sel makrofag mencit yang diberi ekstrak etanol rimpang temu giring pada metode pembersihan karbon dibandingkan kelompok kontrol?
2. Bagaimana jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil darah tepi mencit yang diberi ekstrak etanol rimpang temu giring pada metode pembersihan karbon dibandingkan kelompok kontrol?

1.3 Tujuan Penelitian

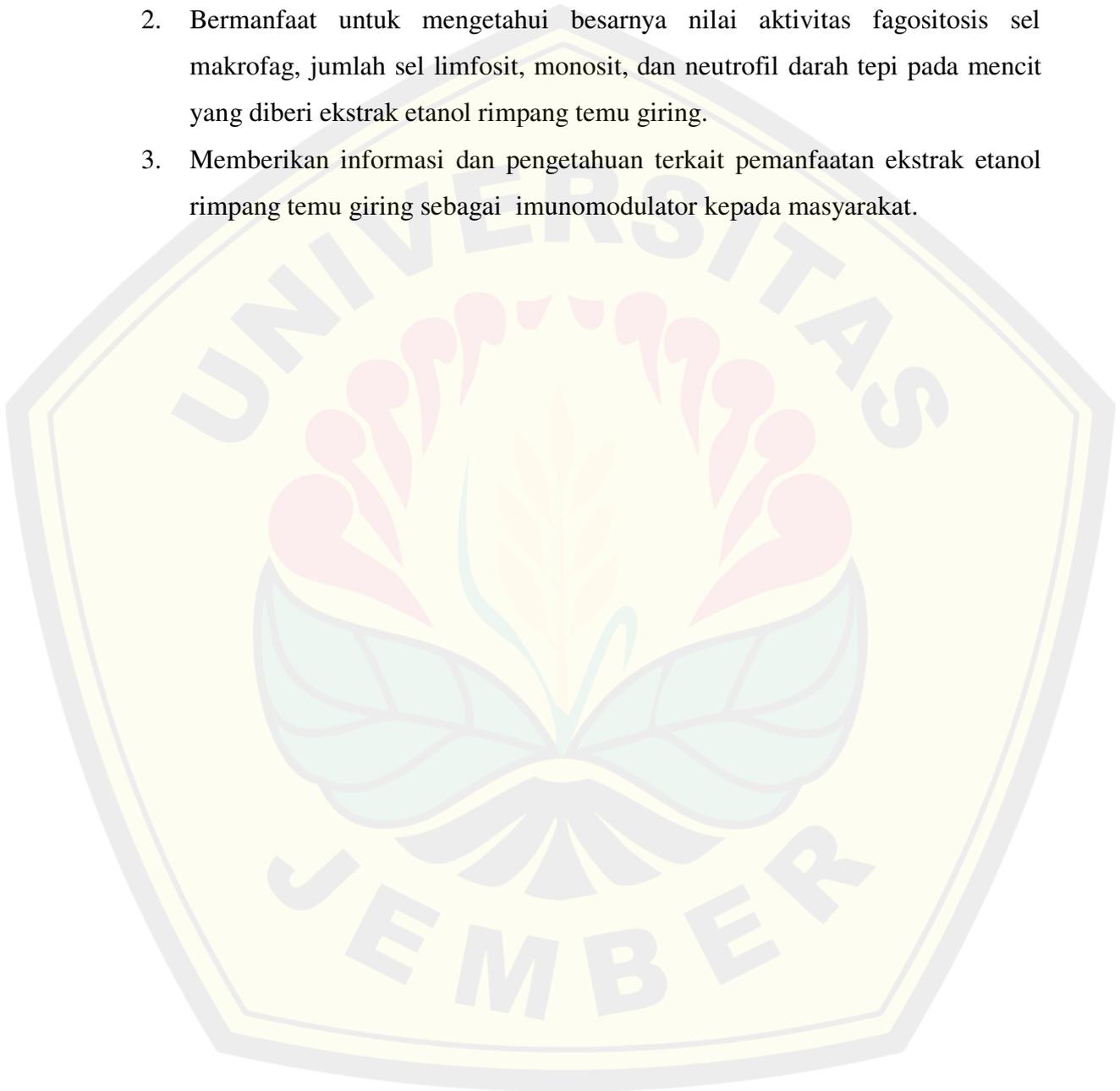
Berdasarkan rumusan masalah di atas, penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui nilai indeks fagositosis sel makrofag mencit yang diberi ekstrak etanol rimpang temu giring pada metode bersihan karbon dibandingkan kelompok kontrol.
2. Mengetahui jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil darah tepi mencit yang diberi ekstrak etanol rimpang temu giring pada metode bersihan karbon dibandingkan kelompok kontrol.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Sebagai landasan penelitian lebih lanjut dan informasi ilmiah khususnya dalam bidang kefarmasian mengenai potensi dari rimpang temu giring sebagai imunomodulator dengan metode bersihan karbon.
2. Bermanfaat untuk mengetahui besarnya nilai aktivitas fagositosis sel makrofag, jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil darah tepi pada mencit yang diberi ekstrak etanol rimpang temu giring.
3. Memberikan informasi dan pengetahuan terkait pemanfaatan ekstrak etanol rimpang temu giring sebagai imunomodulator kepada masyarakat.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tumbuhan Temu Giring

Ada sebanyak 70 spesies yang dimiliki oleh marga *Curcuma* (Hendrian dan Hadiah, 1999). Temu giring merupakan salah satu spesies dari marga ini yang berpotensi untuk digunakan sebagai pengobatan (Backer dan Van Den Brink, 1968). Rimpang ini biasanya sering digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan jamu (Salim dkk., 2017). Temu giring dikelompokkan dalam spesies *indigineous* atau spesies asli Indonesia (Bos dkk., 2007). Berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian Nomor 511/Kpts/PD.310/2006, rimpang temu giring ditetapkan sebagai bagian dari komoditas tanaman obat (Salim dkk., 2017). Selain itu, rimpang ini juga terdaftar sebagai tanaman yang digunakan untuk obat tradisional dalam buku "Pemanfaatan Tanaman Obat oleh Departemen Kesehatan RI Edisi III Tahun 1983" (Tukiman, 2004).

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Berikut klasifikasi tumbuhan temu giring menurut Lianah (2019):

| | |
|-----------|---|
| Divisi | : Spermatophyta |
| Subdivisi | : Angiospermae |
| Kelas | : Monocotyledonae |
| Bangsa | : Zingiberales |
| Suku | : Zingiberaceae |
| Marga | : <i>Curcuma</i> |
| Jenis | : <i>Curcuma heyneana</i> Valetton & Zijp |

2.1.2 Deskripsi Tumbuhan

Rimpang temu giring memiliki nama daerah temureng dan temupala (Santoso, 2008). Rimpang ini disebut temu poh oleh penduduk Bali (Nuraeni dan Yunilawati, 2012). Rimpang temu giring merupakan tanaman semusim dengan tinggi dapat mencapai 1 meter, tegak, dan tumbuh berumpun (Syamsuhidayat dan

Hutapea, 1991). Rimpang temu giring dapat tumbuh pada ketinggian 200–750 meter di atas permukaan laut dengan curah hujan tahunan 1000-3.500 mm/tahun. Rimpang temu giring membutuhkan kelembaban sedang dan penyinaran tinggi. Tanah lotosol merah cokelat, tekstur lempung berkilat, dan lempung merah merupakan tempat tumbuh yang tepat untuk rimpang ini (Santoso, 1998). Perakarannya memiliki kedalaman 10-25 cm dari permukaan tanah. Derajat keasaman (pH) dari rimpang ini antara 6-7. Agar dapat tumbuh, tingkat kesuburan dari rimpang ini, yaitu sedang sampai tinggi. Rimpang ini banyak ditemukan di daerah Jawa Timur (Muhlisah, 1999).

Batang temu giring berbentuk bulat, semu, tegak, membentuk rimpang, dan berwarna hijau kekuningan (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991). Daun dari rimpang ini berupa daun tunggal dengan helai 3-8, ujung dan pangkal daun runcing, tepi rata, pertulangan daun menyirip, dan berwarna hijau pucat. Bunga rimpang ini tumbuh pada bagian samping batang semu. Dagingnya berwarna kuning cerah dan berbau aromatis khas (Muhlisah, 1999). Gambar rimpang temu giring (empu (A), entik (B), dan irisan temu giring yang berwarna kuning cerah (C)) dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Rimpang temu giring (Sumber : Jalil, 2019).

2.1.3 Kandungan Fitokimia dan Manfaat

Pada penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa konstituen utama *Curcuma heyneana* adalah kurkuminoid dan seskuiterpen (Diasuti dkk., 2014). Kurkumin merupakan bahan aktif utama dalam spesies *Curcuma* yang telah banyak dilaporkan untuk imunomodulasi yang kuat, antioksidan, antiinflamasi,

dan aktivitas antitumor (Yuandani dkk., 2021). Selain itu, rimpang temu giring juga mengandung banyak senyawa kimia, seperti minyak atsiri (0,8-3%), saponin, flavonoid, tanin, amilum, lemak, damar, dan zat warna kuning (Yustin dan Wijayanti, 2018). Kandungan minyak atsiri dari rimpang ini dimanfaatkan sebagai bumbu masak, bahan baku pembuatan kosmetik dan obat-obatan (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991; Kemendag, 2014). Pada bidang farmasi, senyawa saponin digunakan sebagai antibiotik, antijamur, dan antitumor (Nur dkk., 2019). Sedangkan senyawa flavonoid digunakan untuk memperbaiki sel yang rusak akibat radikal bebas (Jalil, 2019).

Senyawa lain yang terkandung di dalam temu giring adalah senyawa fenolik (Yustin dan Wijayanti, 2018). Senyawa fenolik diketahui memiliki aktivitas antioksidan, antikanker, antimikroba, dan lain-lain. Selain itu, kandungan piperazin sitrat dari rimpang temu giring dimanfaatkan sebagai obat cacing karena dapat menangkal serangan cacing gelang (*Ascaris*) (Jalil, 2019). Distilasi uap air dari rimpang temu giring menghasilkan komponen kimia, yaitu acetophenone sebanyak 18,93%; camphene sebanyak 8,39%; camphor sebanyak 17,89%; dan sisanya berupa *aguaiene*, *curzerene*, *curzerenone*, *germacrone*, β -*elemene*, dan *1,8-cineole* (Nuraeni dan Yunilawati, 2012). Senyawa yang berhasil diisolasi diantaranya adalah *heyneanone A* dan *C*; *aerugidiol*; *procurcumenol*; *zerumin A*; *4,10-epizedoarondiol*; *15,16-bisnorlabda-8*; dan *11-dien-13-one* (Saifudin dkk., 2013).

2.1.4 Penelitian Terdahulu

Aktivitas antidiabetes, antiaging, antibakteri, antiinflamasi dan antihiperlipidemia telah dilaporkan dari rimpang temu giring (Aprilliani dkk., 2019). Ekspresi iNOS dan kadar NO pada sel beta pankreas tikus DM mengalami penurunan setelah pemberian ekstrak etanol rimpang temu giring (Lukiati dkk., 2012). Penghambatan mediator inflamasi dan penghambatan fosforilasi MAPKs dan IKK untuk mencegah aktivasi NF- κ B menunjukkan aktivitas antiinflamasi senyawa Zedoarondiol yang diisolasi dari rimpang temu giring (Cho dkk., 2009). Aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,49 ppm juga dilaporkan dengan

pemberian sari temu giring yang terfermentasi (Yustin dan Wijayanti, 2018). Pada penelitian yang lain menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam rimpang temu giring memiliki aktivitas anti-penuaan yang kuat. Hal tersebut diketahui karena ekstrak etanol rimpang temu giring dapat memperbaiki kerusakan spesimen kulit tikus yang telah dipaparkan sinar UV, sehingga ekstrak ini dijadikan sebagai kandidat obat anti-penuaan atau *phyto-cosmeceutical* (Kusumawati dkk., 2018).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Diastuti dkk. (2014) telah mengisolasi tiga senyawa seskuiterpen dari rimpang temu giring, yaitu germakron, dehidrokurdion, dan 1(10),4(5)-diepoksigermakron. Ketiga senyawa tersebut diuji aktivitas antibakterinya dengan melihat nilai MIC dan MBC. Aktivitas tertinggi terhadap *B. subtilis* dengan nilai MIC dan MBC 31,2 µg/mL ditunjukkan oleh senyawa dehidrokurdion dan aktivitas tertinggi terhadap *P. aeruginosa* dengan nilai MIC 15,6 µg/mL dan MBC 31,2 µg/mL ditunjukkan oleh senyawa germakron (Diastuti dkk., 2014). Aktivitas antibakteri juga ditunjukkan oleh rimpang temu giring terhadap bakteri *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* (Adila dkk., 2013).

Efek tonikum terhadap mencit jantan telah dilaporkan pada rimpang temu giring dosis 100 mg/kgBB. Efek tonikum dapat menstimulasi perbaikan pada sel-sel otot tonus dan memperkuat semua sistem organ (Wiyanti dan Endrawati, 2017). Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Apriliani dkk. (2019) disebutkan bahwa dosis 10, 20, dan 40 mg/kgBB dari ekstrak etanol temu giring dapat melindungi kenaikan kadar trigliserida sebesar 122,2 %, 143,3 % dan 171,7 %. Kemampuan proteksi pada dosis 40 mg/kgBB memberikan hasil yang sama dengan kontrol positif gemfibrozil (Aprilliani dkk., 2019).

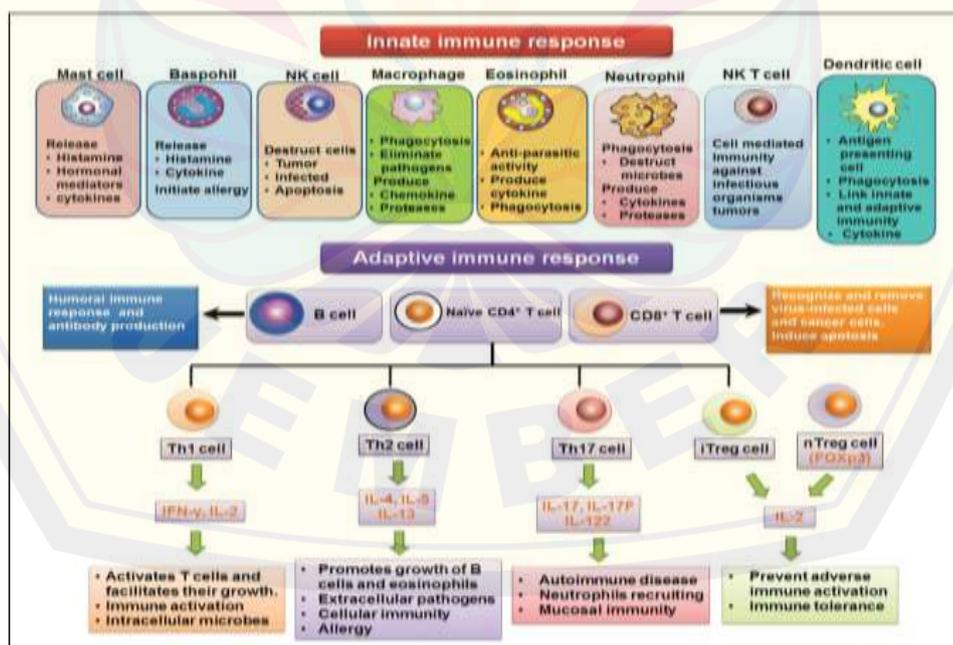
2.2 Sistem Imun

Sistem imun didefinisikan sebagai sistem biologis terkoordinasi yang bertujuan untuk melindungi individu serta mencegah invasi organisme dan zat berbahaya di lingkungan yang dapat merusaknya (Munasir, 2016). Sistem imun

dapat membedakan jaringan normal dengan antigen seperti bakteri, virus, parasit, dan cacing (Sudiono, 2014). Namun, pada kondisi patologis tertentu, sistem imun akan membentuk zat anti terhadap jaringan tubuhnya sendiri karena tidak dapat membedakan antara dirinya sendiri dengan antigen (Kresno, 2001).

2.3 Respon Imun

Pada saat antigen masuk ke dalam tubuh, maka tubuh akan memberikan respon terhadap antigen tersebut sebagai bentuk untuk melakukan perlindungan diri. Respon tersebut dibagi menjadi dua, respon imun alami/non-spesifik dan respon imun adaptif/spesifik. Respon dari sistem imun ini akan menghasilkan interaksi antara satu komponen dengan komponen lain membentuk suatu aktivitas biologis yang serasi dan seirama dan berlangsung secara bersama-sama (Roit, 1989). Respon lini pertama tubuh terhadap adanya zat asing dikenal sebagai respon imun alami/non-spesifik. Sedangkan respon imun adaptif/spesifik memiliki kemampuan dalam mengingat kembali (memori) sehingga dapat memberikan respon yang lebih efektif pada invasi selanjutnya (Getz, 2005). Sel-sel yang terlibat dalam respon imun alami dan adaptif tercantum pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Jenis sel yang terlibat dalam respon imun bawaan dan adaptif (Sumber : (Jantan dkk., 2015)).

2.3.1 Respon Imun Alami/*Innate*/Non-spesifik

Respon imun alami merupakan respon tubuh yang sudah ada sejak lahir dan siap untuk melindungi tubuh terhadap adanya zat asing yang masuk. Respon imun ini meliputi pertahanan fisik/mekanik, pertahanan biokimia, pertahanan humoral, dan pertahanan seluler. Respon ini menjadi pertahanan lini pertama tubuh dalam menghadapi serangan mikroba dan patogen asing dengan cara memberikan respon secara langsung dan dengan cepat memusnahkannya. Respon ini akan ditingkatkan oleh adanya infeksi, misalnya selama fase akut penyakit, maka jumlah sel leukosit juga akan meningkat. Adanya rangkaian kompleks dari peristiwa selular dan molekular dapat memediasi respon imun *innate*/bawaan termasuk fagositosis, inflamasi, aktivasi komplemen, dan sel *natural killer* (sel NK) (Sudiono, 2014).

Fagositosis merupakan proses penghacuran antigen sebagai upaya pertahanan diri oleh tubuh. Peranan penting dalam proses fagositosis dilakukan oleh sel monosit, makrofag, dan neutrofil. Proses pertama sebelum terjadinya peristiwa fagositosis, yaitu pelekatan antigen pada permukaan sel fagosit. Antigen tersebut akan melepaskan zat atau mediator tertentu yang dapat memediasi faktor leukotaktik atau kemotaktik sehingga dapat mendorong sel-sel fagosit bergerak menuju tempat keberadaan antigen (Suardana, 2017). Selain faktor leukotaktik atau kemotaktik, antigen juga perlu mengalami opsonisasi terlebih dahulu agar lebih mudah ditangkap oleh sel fagosit. Opsonisasi merupakan proses pelapisan antigen dengan immunoglobulin atau komplemen (C3b). Kemudian antigen tersebut secara endositosis akan masuk ke dalam sel dan akan terperangkap dalam kantong fagosom, kemudian antigen akan dihancurkan di dalam fagosit dengan proses oksidasi-reduksi maupun oleh derajat keasaman atau dengan penyatuan fagosom dan lisosom sehingga membentuk fagolisosom yang mengandung enzim lisozim yang digunakan untuk menghancurkan partikel tersebut (Kresno, 2001).

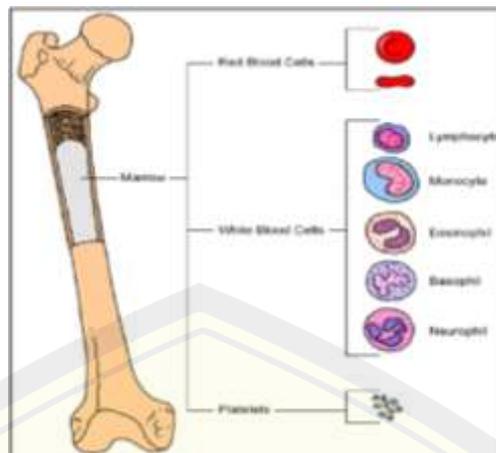
2.3.2 Respon Imun Adaptif/Spesifik

Respon imun adaptif timbul akibat tubuh pernah terpapar oleh antigen sebelumnya. Antigen akan diproses sedemikian rupa sehingga dapat dikenali dan

terjadi interaksi dengan sel imun, dimulai dengan adanya aktivitas makrofag atau *antigen presenting cell* (APC). Setelah antigen dikenali, sel sistem imun tersebut akan mengalami proliferasi dan diferensiasi sehingga menjadi sel imun yang dapat berkompetisi secara imunologis dan bereaksi dengan antigen (Bellanti, 1985). Antigen yang pernah terpapar sebelumnya dapat dikenali kembali oleh respon imun adaptif, sehingga saat terjadi paparan selanjutnya oleh antigen yang sama, respon ini akan meningkatkan efektifitas mekanisme pertahanan tubuh. Sel yang memainkan peranan penting pada respon imun ini adalah limfosit. Sel limfosit memiliki sel memori yang dapat mengenali setiap antigen yang masuk ke dalam tubuh. Limfosit secara umum diklasifikasikan menjadi dua, yaitu limfosit T dan limfosit B. Sel induk limfosit T dan limfosit B berasal dari sel yang sama, yaitu sumsum tulang belakang (Subowo, 2009).

2.4 Tinjauan Tentang Leukosit

Leukosit adalah sel dari sistem kekebalan yang terlibat dalam berbagai proses biologis yang berkaitan dengan gangguan dan penyakit organ yang signifikan (Crane dkk., 2003). Leukosit merupakan pertahanan utama tubuh dalam melawan penyakit, melindungi terhadap kerusakan dari patogen, dan menghilangkan sel-sel yang rusak (Glenn dan Armstrong, 2019). Sel ini berfungsi sebagai pertahanan alami tubuh terhadap cedera dan penyakit (Patel dan Mishra, 2015). Produksi sel leukosit akan meningkat selama proses inflamasi. Nilai normal leukosit pada hewan coba mencit, berkisar dari $2 \times 10^3 - 10 \times 10^3 / \text{mm}^3$ (O'Connell dkk., 2015). Berdasarkan ada tidaknya granula sitoplasmik, leukosit diklasifikasikan menjadi granulosit dan agranulosit. Neutrofil, eosinofil, dan basofil merupakan subset dari granulosit. Sedangkan monosit dan limfosit termasuk subset nongranulosit atau agranulosit (Flaherty, 2012). Sumsum tulang dan komponen darah putih dapat dilihat pada Gambar 2.3.



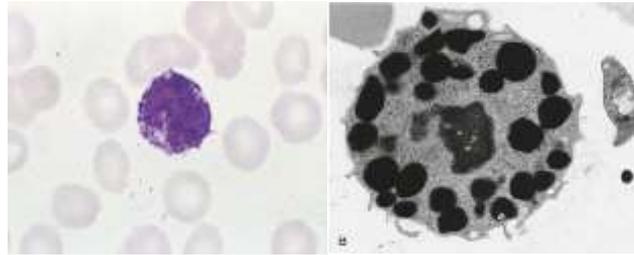
Gambar 2.3 Sumsum tulang dan komponen darah (Patel dan Mishra, 2015)

2.4.1 Granulosit

Granulosit merupakan leukosit yang mengandung butiran sitoplasma yang mudah diwarnai dan terlihat pada mikroskop (Glenn dan Armstrong, 2019). Granulosit dibedakan berdasarkan sifat pewarnaan pada granulnya. Sel yang menarik pewarna asam seperti eosin disebut eosinofil, sel yang menarik pewarna dasar seperti hematoksilin disebut basofil, dan sel yang tidak menarik keduanya disebut neutrofil. Ketiga sel ini memiliki peran penting dalam sistem pertahanan tubuh (Tizard, 2018).

a. Basofil

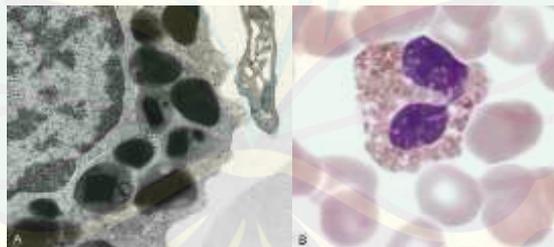
Basofil merupakan leukosit yang bersirkulasi kurang dari 1%. Basofil memiliki inti multi-lobus, heterokromatik, dan mudah diwarnai dengan pewarna asam atau basofilik. Basofil merupakan sel efektor utama dalam reaksi alergi kulit dan penghentian infeksi cacing (Flaherty, 2012). Cara kerja utama basofil adalah bermigrasi ke tempat cedera dan melepaskan histamin dan heparin. (Ashton, 2010). Basofil berukuran 10-14 μm dengan dua lobus yang dihubungkan oleh filamen tipis tanpa kromatin. Lobus tersebut seringkali berbentuk S dan ditutupi granul (Rodak dan Carr, 2017). Gambaran sel basofil dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Basofil dengan inti yang tidak jelas (A) dan Struktur internal basofil ditunjukkan dalam mikrograf elektron (B) (Sumber: Rodak, dkk., 2007 dan Rodak dan Carr, 2017).

b. Eosinofil

Eosinofil menyumbang 2-4% dari leukosit yang bersirkulasi. Ukurannya mirip dengan neutrofil dan dikenali sebagai nukleus berlobus ganda dan granula merah yang banyak. Eosinofil akan menelan bakteri yang ditandai antibodi dan puing-puing sel, tetapi bentuk utama serangan mereka terhadap benda asing adalah pelepasan senyawa beracun seperti oksida nitrat dan enzim sitotoksik (Ashton, 2010). Eosinofil berespon terhadap alergen yang bersirkulasi dan dapat meningkat jumlahnya selama reaksi alergi. Eosinofil dapat mengurangi keparahan reaksi alergi dengan memfagosit kompleks imun dengan antigen dan menonaktifkan beberapa bahan kimia inflamasi (Glenn dan Armstrong, 2019). Gambaran sel eosinofil dapat dilihat pada Gambar 2.5

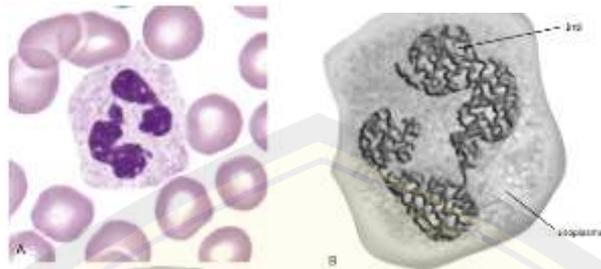


Gambar 2.5 Struktur internal granula eosinofil ditunjukkan dalam mikrograf elektron (A) dan eosinofil dalam hapusan darah (B) (Sumber: Rodak, dkk., 2007 dan Rodak dan Carr, 2017).

c. Neutrofil

Sebanyak 50-70% dari leukosit darah tepi adalah neutrofil polimorfonuklear (PMN). Ukuran neutrofil kira-kira dua kali lebih besar dari eritrosit (Glenn dan Armstrong, 2019). Sel ini memiliki diameter sekitar 10 hingga 20 μm . Granula dari sel ini tampak tipis (pucat) (Rodak dan Carr, 2017). Mencerna dan

menghancurkan antigen yang masuk merupakan fungsi utama sel neutrofil. PMN memiliki nukleus multilobus (Flaherty, 2012). Gambaran sel neutrofil dapat dilihat pada Gambar 2.6



Gambar 2.6 Neutrofil polimorfonuklear (PMN) dalam hapusan darah (A) dan Skema leukosit polimorfonuklear dengan nukleus multilobus (B) (Sumber: Rodak, dkk., 2007 dan Rodak dan Carr, 2017).

Neutrofil adalah sel fagosit yang membentuk garis pertahanan pertama tubuh dalam melawan infeksi bakteri. Sel ini sangat *mobile* dan pada infeksi bakteri, sel ini akan bermigrasi melalui endotel kapiler, tertarik ke tempat respon inflamasi oleh zat kemotaktik dari jaringan yang rusak. Neutrofil mengandung granula, beberapa di antaranya mengandung enzim hidrolitik yang dikenal sebagai lisosom. Butiran lain mengandung protein yang disebut defensin yang akan membentuk lubang besar di membran sel bakteri, jamur, dan beberapa virus sehingga membantu penghancuran sel tersebut (Glenn dan Armstrong, 2019).

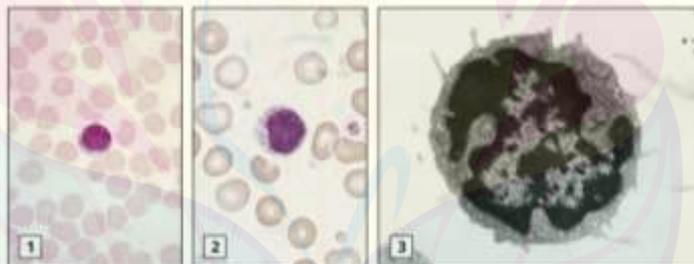
Fagositosis bakteri dikaitkan dengan peningkatan laju metabolisme neutrofil, menghasilkan hidrogen peroksida dan anion superoksida yang dapat membunuh bakteri. Neutrofil melepaskan prostaglandin yang dapat meningkatkan permeabilitas kapiler dan menyebabkan peradangan, sehingga membatasi penyebaran infeksi. Leukotrien juga disekresi oleh sel ini untuk menarik fagosit lain ke tempat infeksi (Ashton, 2010). Neutrofil memiliki masa hidup yang pendek sekitar 10 jam, tetapi ketika mereka secara aktif menelan bakteri, ini dapat dipersingkat menjadi hanya 30 menit. Kematian neutrofil dalam jumlah besar membentuk nekrosis purulen (nanah) (Glenn dan Armstrong, 2019). Jumlah neutrofil dalam darah dapat menunjukkan tingkat infeksi yang dialami seseorang. Persentase jumlah neutrofil normal pada mencit berkisar 20-30% (O'Connell dkk., 2015).

2.4.2 Agranulosit

Agranulosit merupakan leukosit yang tidak memiliki butiran (granula) pada sitoplasmanya. Agranulosit dibedakan menjadi dua, yaitu limfosit dan monosit. Limfosit kemudian dibagi lagi menjadi limfosit B (sel B) dan limfosit T (sel T) (Scott dan Fong, 2017).

a. Limfosit

Limfosit menyumbang 20-45% dari sel darah putih yang bersirkulasi. Limfosit memiliki waktu paruh beberapa minggu hingga tahun. Berdasarkan ukuran dan pola pewarnaan, limfosit dibedakan menjadi 2 macam, yaitu limfosit kecil dan limfosit granular besar. Limfosit granular besar (LGL) berfungsi sebagai sel *natural killer* yang dapat menginduksi terjadinya apoptosis pada sel yang terinfeksi virus dan sel tumor (Flaherty, 2012). Limfosit bertanggung jawab atas respon pertahanan spesifik terhadap infeksi yang dikenal sebagai imunitas. Limfosit dapat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu sel B, sel T dan sel *natural killer* (NK) (Ashton, 2010). Gambaran sel limfosit dapat dilihat pada Gambar 2.7



Gambar 2.7 Limfosit kecil (1), Limfosit granular besar (LGL) (2), Mikrograf elektron limfosit (3) (Sumber: Rodak, dkk., 2007 dan Rodak dan Carr, 2017).

Limfosit B (sel B) berperan dalam menghasilkan antibodi setelah bertemu antigen tertentu. Sel ini kemudian mengikat antigen dan memicu sel asing untuk proses fagositosis. Ketika limfosit B yang belum matang bertemu dengan antigen yang dikenalnya, maka sel tersebut akan menelan antigen. Molekul kompleks histokompatibilitas utama (MHC) II yang hadir di permukaan sel B kemudian menyajikan fragmen antigen yang tertelan. Sel ini kemudian harus bergabung dengan sel Th tipe 2 yang cocok untuk menyelesaikan pematangan dan menjadi sel B yang memproduksi antibodi (Glenn dan Armstrong, 2019).

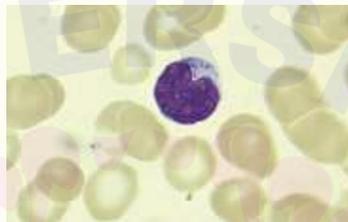
Limfosit T (sel T) bertanggung jawab atas imunitas utama terhadap infeksi virus dan jamur, serta berperan dalam reaksi hipersensitivitas tertunda dan penolakan transplantasi. Antigen dapat disajikan ke sel T oleh makrofag dan sel dendritik dengan mengaktifkan produksi sitokin. Sel T menghasilkan diferensiasi sub-kelas yang berbeda, yaitu sel CD4+ dan CD8+ (Glenn dan Armstrong, 2019). Sel CD8+ adalah sel T sitotoksik (sel Tc) yang bertugas untuk mengoordinasikan imunitas yang diperantarai sel dengan bermigrasi ke tempat invasi sel asing dan menyerang sel bersama dengan sel leukosit lain. Sel T *helper* CD4+ (sel Th) berdiferensiasi menjadi dua jenis sel. Sel Th-1 mengaktifkan makrofag untuk menghancurkan organisme intraseluler dan sel Th-2 menghasilkan antibodi dengan mengaktifkan sel B. Sel T supresor (sel Ts) menghambat aktivasi sel T dan sel B, serta memoderasi respon imun (Ashton, 2010)

Kelas ketiga limfosit adalah sel *natural killer* (sel NK), yang bertanggung jawab untuk surveilans imunologi jaringan normal. Sel NK akan mengenali dan menyerang antigen asing apa pun pada membran apa pun sehingga mereka bertindak cepat dan tidak spesifik (Glenn dan Armstrong, 2019). Sel NK menyekresi perforin dan enzim litik lainnya untuk menginduksi terjadinya lisis spontan pada sel terinfeksi virus dan tumor. Selain itu, sel NK dapat menginduksi ADCC (*antibody-dependent cell mediated cytotoxicity*) pada sel target dengan cara mengikatnya pada bagian Fc antibodi (Sudiono, 2014).

b. Monosit

Monosit terbentuk di sumsum tulang dan limpa. Monosit lebih besar dari sel darah putih lainnya dan lebih besar dari eritrosit (diameter 15 μ m). Sel ini menyumbang 2-8% dari jumlah total leukosit. Monosit dapat dibedakan dengan nukleusnya yang berbentuk oval atau ginjal (Ashton, 2010). Sel ini berperan dalam proses fagositosis. Monosit dapat menjadi makrofag jaringan atau histiosit dengan cara meninggalkan aliran darah dan menempel pada jaringan. Selama inflamasi, makrofag membantu menutup dan mengisolasi area yang terinfeksi (Scott dan Fong, 2017). Monosit dapat mendegradasi bahan asing dan menyajikannya ke limfosit sebagai bagian dari respon imun. Monosit

menghasilkan metabolit oksigen reaktif dan nekrosis tumor faktor (TNF) yang memiliki aktivitas tumorisidal (Flaherty, 2012). Dalam sirkulasi (24 jam), monosit hanya menghabiskan waktu singkat sebelum memasuki jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag dapat menelan benda-benda besar dan sangat penting dalam pertahanan terhadap virus, parasit dan infeksi kronis. Selama fagositosis, mereka melepaskan sinyal yang menarik neutrofil dan monosit, serta makrofag lainnya. Mereka juga menarik fibroblas sehingga menghasilkan jaringan parut untuk mengisolasi area yang terluka (Glenn dan Armstrong, 2019). Gambaran sel monosit dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Monosit dengan nukleus yang berbentuk oval atau ginjal (Sumber: Roitt, dkk., 2006)

2.5 Imunomodulator

Imunomodulator adalah zat yang dapat bertindak sebagai imunostimulan maupun immunosupresan. Zat ini menstimulasi mekanisme pertahanan alamiah dan adaptif dengan cara memodifikasi respon imun di dalam tubuh (Martinus dkk., 2019). Pada organisme yang sehat, sistem kekebalan berfungsi untuk mempertahankan homeostasis di dalam tubuh. Fungsi dan efisiensi sistem imun dipengaruhi oleh berbagai faktor eksogen dan endogen yang mengakibatkan immunosupresi atau immunostimulasi (Puri dkk., 1994; Jantan dkk., 2015). Peristiwa seluler seperti apoptosis, sintesis protein, presentasi antigen, penargetan berbagai faktor transkripsi dan mediator imun dapat dimodulasi oleh adanya immunomodulator (Nair dkk., 2018). Imunomodulator umumnya dikategorikan ke dalam immunoadjuvant, imunostimulan, dan immunosupresan dalam praktik klinis (Jantan dkk., 2015).

2.5.1 Imunoadjuvant

Agen-agen ini digunakan untuk meningkatkan kemanjuran vaksin dan oleh karena itu, dapat dianggap sebagai stimulan imun spesifik. Contoh dalam hal ini adalah adjuvant Freund. Imunoadjuvant menjanjikan sebagai modulator respon imun yang sebenarnya dan telah diusulkan untuk mengeksploitasi respon imun untuk memilih antara respon imun seluler dan humoral, Th1 (sel T1 *helper*) dan Th2 (sel T2 *helper*) imunoprotektif dan imunodestruktif, serta jenis respon imun reagen (IgE) versus imunoglobulin G (IgG), yang tampaknya akan menjadi tantangan nyata bagi perancang vaksin (Saroj dkk., 2012).

2.5.2 Imunostimulan

Imunostimulator atau imunostimulan merupakan senyawa yang dapat mengaktifkan atau menginduksi mediator atau komponen sistem kekebalan. Senyawa-senyawa tersebut diharapkan dapat meningkatkan daya tahan tubuh terhadap infeksi karena secara inheren bersifat nonspesifik. Respon imun bawaan dan respon imun adaptif merupakan hasil manifestasi dari agen ini. Sebagai agen profilaksis dan promotor, imunostimulan diharapkan dapat berfungsi sebagai imunopotensiator dengan meningkatkan respon imun pada individu sehat, dan sebagai agen imunoterapi pada individu dengan gangguan respon imun (Saroj dkk., 2012). Obat-obatan yang berfungsi sebagai imunostimulan, yaitu levamisole, isoprinosin, dan simetidin (Martinus dkk., 2019).

2.5.3 Imunosupresan

Imunosupresor atau imunosupresan adalah agen yang digunakan untuk menurunkan respon imun yang berlebihan. Imunosupresan bekerja dengan memusnahkan sel T dan menghambat transkripsi dari sitokin. Kegunaan dari senyawa ini secara klinis terutama untuk mengatasi penyakit autoimun, reaksi penolakan transplantasi organ, penyakit inflamasi yang menimbulkan kerusakan jaringan. Obat imunosupresan digunakan pada penyakit autoimun dan pasien yang akan menjalani transplantasi karena kemampuannya untuk menekan respon imun

(Nafrialdi, 2007). Contoh obat immunosupresan, yaitu siklofosamid dan azatioprin (Slobbe, 2012).

2.6 Metode Pengujian Efek Immunomodulator

Model praklinis studi immunomodulator merupakan bagian yang tidak terpisahkan dalam proses penemuan dan pengembangan obat. Model praklinis studi immunomodulator yang sering digunakan, yaitu model *murine* termasuk respon antibodi humoral (HA), respon hipersensitivitas tipe tertunda, fagositosis makrofag dengan metode pembersihan karbon, efek pada jumlah leukosit total, dan studi mobilisasi leukosit (Ganeshpurkar dan Saluja, 2017).

2.6.1 Fagositosis Makrofag dengan Metode Bersihan Karbon

Uji pembersihan karbon dilakukan untuk melihat kemampuan sel-sel fagosit dalam memfagositosis partikel karbon. Sel tersebut termasuk dalam respon imun bawaan atau non spesifik. Hasil yang diperoleh dari metode ini, yaitu kecepatan pembersihan senyawa karbon oleh sistem retokuloendotelial (Wagner dan Jurcic, 1991). Uji bersihan karbon mengevaluasi efek obat dan fitokonstituen dari sistem retikuloendotelial (RES). RES terdiri dari sel-sel fagosit. Setelah partikel karbon koloid diinjeksikan ke dalam darah secara intravena, karbon tersebut akan dieliminasi oleh RES melalui proses fagositosis. Proses tersebut mencakup 'opsonisasi' partikel asing oleh antibodi dan komplemen C3b sehingga menghasilkan pembersihan benda asing dari darah. Dengan demikian, penghapusan cepat partikel karbon telah dikaitkan dengan peningkatan aktivitas fagositosis (Ganeshpurkar dan Saluja, 2017).

Uji pembersihan karbon dilakukan dengan menginjeksikan suspensi karbon pada hewan coba secara intravena. Nilai indeks fagositosis diperoleh dari hasil kecepatan bersihan karbon pada hewan coba yang diberikan sediaan uji yang dibandingkan dengan kecepatan bersihan karbon pada hewan coba kelompok kontrol. Nilai indeks fagositosis antara 1,0-1,2 menunjukkan bahwa sediaan uji tidak memiliki aktivitas immunostimulan, aktivitas immunostimulan sedang

ditunjukkan dengan nilai indeks fagositosis antara 1,3-1,5, dan aktivitas imunostimulan yang kuat pada sediaan uji ditunjukkan dengan nilai indeks fagositosis lebih dari 1,5 (Wagner dan Jurcic, 1991).

2.6.2 Perhitungan Jumlah dan Jenis Leukosit

Metode pembersihan karbon dan menghitung persentase sel leukosit dilakukan untuk melihat aktivitas dari respon imun non spesifik (Rahman dkk., 2016). Adanya peristiwa fagositosis oleh sel-sel leukosit terutama neutrofil, monosit, makrofag, dan eosinofil menyebabkan jumlah karbon dalam darah akan berkurang seiring pertambahan waktu (Baratawidjaya, 2006). Peningkatan nilai sel neutrofil, monosit dan sel limfosit merupakan salah satu parameter aktivitas imunomodulator (Aldi dkk., 2019). Sampel darah untuk perhitungan jumlah maupun jenis leukosit dapat diambil melalui pembuluh vena mencit yang terdapat di berbagai tempat, yaitu sinus orbital, ekor, maupun vena jugular (Parasuraman dkk., 2010). Darah dari ekor tersebut kemudian diratakan menjadi hapusan darah. Hapusan darah diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x dan dihitung jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil (Roseno dkk., 2019). Hapusan darah tersebut dihitung hingga mencapai 100 leukosit, dari 100 leukosit tersebut dihitung sel limfosit dan neutrofil dalam bentuk persen (Colville dan Bassert, 2016).

2.7 Tinjauan Obat Stimuno

Stimuno merupakan salah satu produk herbal yang telah terbukti secara klinik berkhasiat untuk memelihara atau memperbaiki sistem imun (immunomodulator). Kandungan yang terdapat di dalam kapsul stimuno adalah ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri*). Komposisi dari obat ini, yaitu tiap kapsulnya mengandung 50 mg *Phyllanthus niruri* herba (BPOM, 2020). Meniran memiliki beberapa senyawa bioaktif seperti lignan, *phyllanthin*, *hypophyllanthin*, flavonoid, glikosida, tanin, alkaloid, ellagitannin, triterpen, fenil propanoid, steroid, asam risinolat, nirurisida dan *phyltetralin*. Sebagai obat tradisional,

meniran digunakan untuk mengobati hipertensi, kasus diuretik, batu ginjal, penyakit hati, dan hipoglikemik serta sebagai antiinflamasi, anti tumor, dan antioksidan (Narendra dkk., 2012).

Semua penelitian menggambarkan kemanjuran klinis *Phyllanthus niruri* sebagai imunomodulator melalui aktivasi dan augmentasi sistem kekebalan seluler. Secara khusus, *Phyllanthus niruri* mengaktifkan neutrofil, makrofag atau monosit, serta limfosit T dan B. Hasil tersebut sangat menunjukkan bahwa *P. niruri* mempengaruhi reaksi pertahanan tubuh kita yang melibatkan sistem kekebalan seluler terhadap patogen asing. Dalam semua penelitian yang diterbitkan selama dua dekade terakhir, tidak ada tanda-tanda toksisitas atau reaksi merugikan yang serius dari *P. niruri*. Oleh karena itu, *Phyllanthus niruri* saat ini mulai populer di banyak negara sebagai obat herbal yang efektif dan aman untuk berbagai penyakit menular (Tjandrawinata dkk., 2017).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *true experimental laboratories* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang temu giring (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp) terhadap indeks fagositosis dan jumlah sel leukosit mencit dengan metode bersihan karbon. Pada penelitian ini dilakukan perbandingan antara kelompok uji yang diberi perlakuan menggunakan ekstrak etanol rimpang temu giring dengan kelompok kontrol negatif yang diberi CMC-Na dan kelompok kontrol positif yang diberi fitofarmaka Stimuno Forte® yang berisi ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri*).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember dan dimulai pada bulan Juli 2021.

3.3 Bahan dan Alat Penelitian

3.3.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini, yaitu ekstrak etanol rimpang temu giring (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp), CMC-Na, Stimuno Forte® kapsul, NaEDTA (teknis), metanol (teknis), asam asetat 1%, NaCl fisiologis, xylol, *aquadest*, tinta karbon (Pelikan B-17), minyak imersi (teknis), dan pewarna giemsa (Merck).

3.3.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini, yaitu spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), mikroskop cahaya (Olympus BX53-T), vortex mixer (Benchmark), neraca analitik digital (Ohaus Pioneer), timbangan hewan (Ohaus), seperangkat

alat gelas (Pyrex), kandang mencit serta alat makan dan minum, jarum sonde mencit, plat tetes, spuit injeksi dan *needle 32s*, serta *object* dan *cover glass*.

3.4 Hewan Uji

Pada penelitian ini, hewan uji yang digunakan adalah mencit *strain* Balb/C dengan jenis kelamin jantan yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Mencit yang digunakan yaitu mencit yang berusia 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram. Mencit tersebut kemudian dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan 3 kelompok uji. Mencit yang digunakan harus dalam keadaan sehat dan tidak ada kelainan yang tampak pada bagian tubuhnya. Jumlah hewan uji yang digunakan pada penelitian ini dihitung menggunakan rumus Federer (Kusumna dkk., 2016), yaitu:

$$(n-1) (t-1) \geq 15 \dots \dots \dots \text{(Rumus 3.1)}$$

$$(n-1) (5-1) \geq 15$$

$$(n-1) (4) \geq 15$$

$$n-1 \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75 \rightarrow 5$$

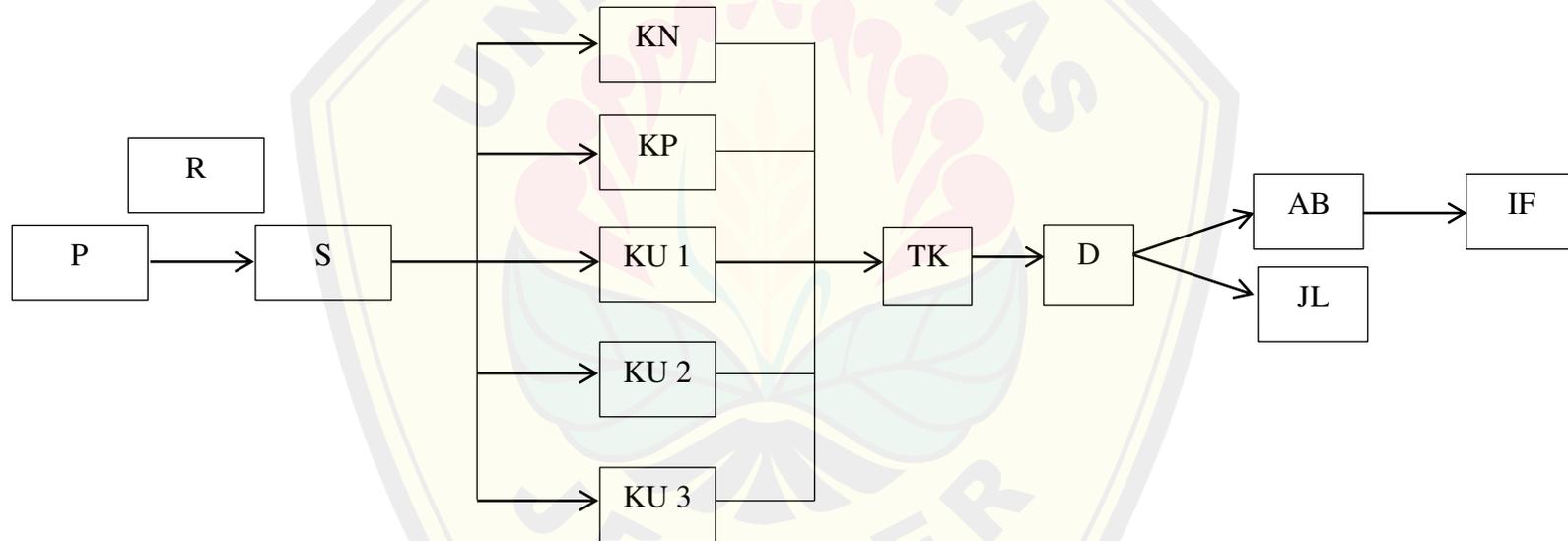
Keterangan: n = Besarnya sampel tiap kelompok

t = Banyaknya kelompok

Hasil perhitungan tersebut menunjukkan jumlah minimal hewan uji yang akan digunakan pada penelitian. Jadi, jumlah hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu sebanyak 5 ekor pada masing-masing kelompok perlakuan, maka total membutuhkan sebanyak 25 ekor mencit *strain* BALB/c.

3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan Penelitian ini menggunakan *Posttest with Control Group Design* dengan mengukur indeks fagositosis dan jumlah leukosit sesudah diberi perlakuan. Rancangan penelitian ini dibagi menjadi kelompok kontrol dan kelompok uji seperti yang dapat dilihat Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

P : Populasi mencit

R : Randomisasi

S : Sampel

KN : Kelompok kontrol negatif dengan pemberian CMCNa 1%

KP : Kelompok kontrol positif dengan pemberian Stimuno 6,5 mg/kgBB

KU 1 : Kelompok uji 1 dengan pemberian ekstrak rimpang temu giring dosis 125 mg/kgBB

KU 2 : Kelompok uji 2 dengan pemberian ekstrak rimpang temu giring dosis 250 mg/kgBB

KU 3 : Kelompok uji 3 dengan pemberian ekstrak rimpang temu giring dosis 500 mg/kgBB

TK : Penyuntikan suspensi karbon secara intravena pada bagian ekor mencit

D : Pengambilan darah pada ekor mencit

AB : Pengukuran absorbansi dengan Spektrofotometri UV-Vis

IF : Perhitungan indeks fagositosis

JL : Perhitungan jumlah leukosit dengan Mikroskop Cahaya

3.6 Variabel Penelitian**3.6.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini berupa dosis ekstrak etanol rimpang temu giring, yaitu 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini, yaitu indeks fagositosis dan jumlah leukosit darah.

3.6.3 Variabel Kontrol

Pada penelitian ini yang termasuk variabel kontrol adalah kriteria hewan uji, waktu perlakuan pada hewan uji, dan jumlah injeksi tinta karbon yang diberikan secara intravena.

3.7 Definisi Operasional

Definisi operasional dari variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Metode bersihan karbon dilakukan untuk menguji aktivitas imunomodulator. Metode tersebut digunakan untuk mengukur aktivitas fagositosis oleh sel makrofag dalam mengeliminasi karbon dari aliran darah. Tingkat bersihan karbon dilihat dari konstanta dan indeks fagositosis yang diperoleh dari pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis.
2. Aktivitas ekstrak etanol rimpang temu giring sebagai imunostimulan dilihat dari peningkatan konstanta dan indeks fagositosis, serta jumlah leukosit pada mencit.
3. Konstanta fagositosis digunakan sebagai parameter untuk menentukan kecepatan proses fagositosis (Aldi dkk., 2014).
4. Indeks fagositosis digunakan untuk melihat besarnya nilai aktivitas fagositosis oleh sel-sel fagosit dalam mengeliminasi partikel karbon yang bertindak sebagai antigen (Aldi dkk., 2014).

3.8 Prosedur Penelitian

Pengujian yang dilakukan pada penelitian ini sesuai dengan ketentuan komisi etik penelitian kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Sertifikat kelayakan etik dapat dilihat pada Lampiran 3.1.

3.8.1 Penyiapan Hewan Uji

Mencit diadaptasikan terlebih dahulu selama satu minggu pada kandang dengan pemberian pakan dan ventilasi yang selalu dijaga kebersihannya agar tetap

sehat. Mencit yang sehat ditandai dengan berat badan yang mengalami peningkatan dan aktif bergerak.

3.8.2 Pembuatan Suspensi CMC Na 1%

Cara membuat suspensi CMC Na 1 % yaitu dengan menimbang 1 g CMC Na lalu taburkan ke dalam mortar yang berisi air panas 20 mL, kemudian tunggu hingga mengembang. Setelah itu, CMC Na diaduk secara konstan sampai homogen dan terbentuk masa kental, kemudian ditambahkan air sampai volume 100 mL.

3.8.3 Pembuatan Suspensi Stimuno

Penelitian ini menggunakan dosis Stimuno Forte® 6,5 mg/kgBB (Erjon dkk., 2020). Sediaan suspensi stimuno dibuat dengan cara menimbang serbuk Stimuno Forte® sebanyak 0,033 mg kemudian dilarutkan ke dalam 10 mL CMC Na 1%. Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 3.2.

3.8.4 Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Rimpang Temu Giring

Pada penelitian ini, suspensi ekstrak etanol rimpang temu giring (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp) dibuat dalam beberapa dosis. Dosis 125 mg/kgBB dibuat dengan cara menimbang 125 mg ekstrak kental rimpang temu giring kemudian dilarutkan dalam 10 mL CMC Na 1%, dosis 250 mg/kgBB dibuat dengan menimbang 250 mg ekstrak kental kemudian dilarutkan dalam 10 mL CMC Na 1%, dan dosis 500 mg/kgBB dibuat dengan menimbang 500 mg ekstrak kental kemudian dilarutkan dalam 10 mL CMC Na 1%. Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 3.3.

3.8.5 Pembuatan Suspensi Karbon

Suspensi karbon dibuat dengan mengambil 1,6 mL tinta karbon kemudian larutkan dalam 8,4 mL CMC-Na yang dilarutkan dalam larutan NaCl fisiologis 0,9 % (Faradilla dan Iwo, 2014).

3.9 Pengujian Efek Imunomodulator

Penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit *strain* Balb/C yang dibagi menjadi 5 kelompok. Pada masing-masing kelompok terdapat 5 ekor mencit. Mencit pada tiap kelompok diberikan perlakuan yang berbeda, yaitu:

- a) Kelompok Kontrol Negatif (KKN) diberikan CMC Na 1%
- b) Kelompok Kontrol Positif (KKP) diberikan Stimuno dosis 6,5 mg/kgBB
- c) Kelompok Uji 1 (KU1) diberikan ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 125 mg/kgBB
- d) Kelompok Uji 2 (KU2) diberikan ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 250 mg/kgBB
- e) Kelompok Uji 3 (KU3) diberikan ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 500 mg/kgBB

Setiap kelompok perlakuan diberikan sediaan secara peroral satu kali sehari selama 6 hari berturut-turut. Pada hari ke-7, ujung ekor mencit dipotong dan darah ditampung pada plat tetes yang ditambahkan NaEDTA. Darah diambil sebanyak 25 μ L dan dilisiskan pada 4 mL asam asetat 1%. Darah pertama (sebelum diberi karbon) digunakan sebagai blanko (menit ke-0) (Roseno dkk., 2019). Kemudian suspensi karbon disuntikkan secara intravena pada bagian ekor sebanyak 0,1 mL. Setelah itu, darah mencit diambil 25 μ L pada menit ke-5 dan 15 setelah penyuntikan. Masing-masing darah tersebut dilisiskan pada 4 mL asam asetat 1%, lalu divortex dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 640,5 nm (Sebayang dkk., 2021).

3.9.1 Perhitungan Konstanta dan Indeks Fagositosis

Uji bersihan karbon dilakukan dengan menghitung konstanta fagositosis (K) dan indeks fagositosis (IF) dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Roseno dkk., 2019):

$$(K) = \frac{\text{Log } A(n) - \text{Log } A(n-1)}{t(n-1) - t(n)} \dots \dots \dots (\text{Rumus 3.2})$$

Keterangan:

K : Konstanta fagositosis

A : Absorbansi

T : Waktu (5 dan 15 menit)

n : Periode pengambilan (1, 2)

$$(IF) = \frac{\text{Konstanta Mencit Z}}{\text{Konstanta Fagositosis Mencit Kontrol Negatif}} \dots\dots\dots (\text{Rumus 3.3})$$

Keterangan:

IF : Indeks fagositosis dari tiap kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Mencit Z : Mencit yang telah diperlakukan dan ditentukan harga konstanta fagositosis.

3.9.2 Perhitungan Jumlah Leukosit

Perhitungan jumlah leukosit dilakukan dengan mengambil darah dari ekor mencit setelah pengambilan darah pada menit terakhir untuk perhitungan indeks fagositosis. Darah dari ekor diteteskan sebanyak 1 mL pada *object glass* kemudian diratakan dengan *cover glass* agar diperoleh lapisan darah homogen, ditunggu hingga kering, lalu ditetesi dengan metanol dan biarkan 5 menit. Setelah itu sampel ditetesi dengan larutan Giemsa (yang sudah diencerkan dengan air suling 1:10), dibiarkan selama 20 menit, lalu dibilas dengan aquadest mengalir dan dikering-anginkan. Sediaan yang telah diwarnai dengan giemsa kemudian diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x menggunakan minyak imersi (Roseno dkk., 2019). Setiap sel limfosit, monosit, dan neutrofil dihitung hingga menemukan 100 sel leukosit (WHO, 2003). Kemudian dihitung persentase jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil dari 100 sel leukosit tersebut menggunakan rumus (Colville dan Bassert, 2016):

$$\text{Limfosit} = \frac{\text{Jumlah limfosit}}{100 \text{ sel leukosit}} \times 100\% \dots\dots\dots (\text{Rumus 3.4})$$

$$\text{Monosit} = \frac{\text{Jumlah monosit}}{100 \text{ sel leukosit}} \times 100\% \dots\dots\dots (\text{Rumus 3.5})$$

$$\text{Neutrofil} = \frac{\text{Jumlah neutrofil}}{100 \text{ sel leukosit}} \times 100\% \dots\dots\dots (\text{Rumus 3.6})$$

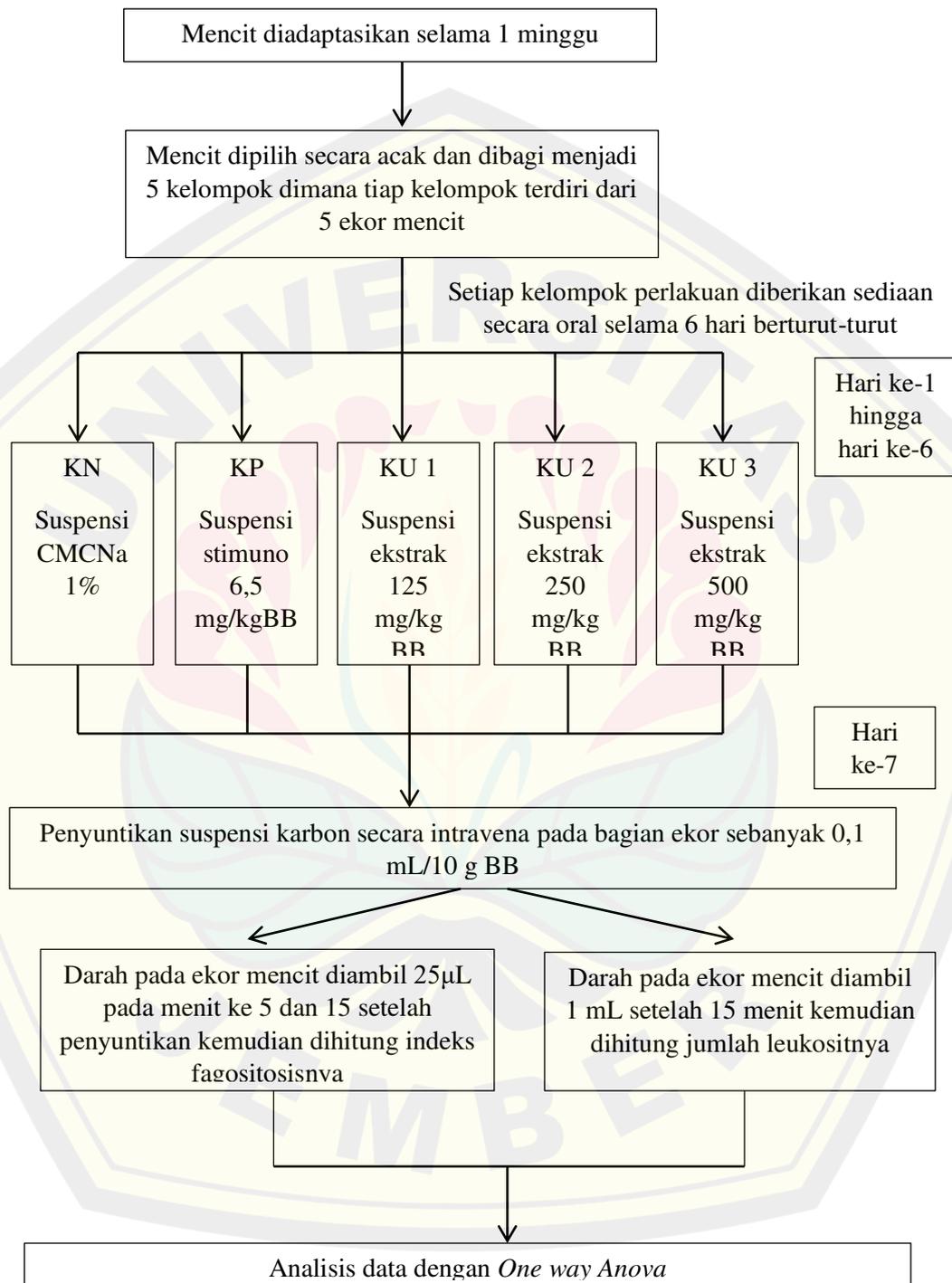
3.10 Analisis Data

Data konstanta, indeks fagositosis, dan jumlah sel leukosit akan ditunjukkan dalam bentuk rata-rata dan SD. Data tersebut kemudian ditentukan homogenitas dan normalitasnya menggunakan program SPSS Statistics 23. Jika data sudah memenuhi persyaratan keduanya ($P > 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji ANOVA satu arah untuk menentukan perbedaan rata-rata di antara perlakuan. Jika hasil signifikansi ($P < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji *post hoc Tukey* untuk mengetahui perbedaan pada masing-masing kelompok perlakuan.



3.11 Skema Penelitian

Skema Pengujian Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp)



Gambar 3.2 Skema Pengujian Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Rimpang Temu Giring

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Perhitungan Konstanta dan Indeks Fagositosis

Pada penelitian ini, uji aktivitas imunomodulator ekstrak etanol rimpang temu giring dilakukan dengan dua metode, yaitu bersihan karbon dan perhitungan jumlah sel leukosit. Metode bersihan karbon dilakukan untuk menghitung konstanta dan indeks fagositosis. Uji bersihan karbon mengevaluasi efek obat dan fitokonstituen dari *reticuloendothelial system* (RES) (Ganeshpurkar dan Saluja, 2017). Sistem retikuloendotelial juga dikenal sebagai sistem fagosit mononuklear, terdiri dari monosit, makrofag, dan sel dendritik yang berada di jaringan seluruh tubuh. Sel-sel tersebut berperan dalam proses fagositosis (Tartaro dkk., 2015). Setelah partikel karbon koloid diinjeksikan ke dalam darah secara intravena, karbon tersebut akan dieliminasi oleh RES melalui proses fagositosis. Penghapusan cepat partikel karbon dari dalam darah telah dikaitkan dengan peningkatan aktivitas fagositosis (Ganeshpurkar dan Saluja, 2017). Nilai konstanta fagositosis menunjukkan kecepatan dari proses fagositosis. Sedangkan nilai indeks fagositosis menunjukkan besarnya aktivitas fagositosis dari sel-sel fagosit terhadap partikel karbon yang dianggap sebagai antigen (Aldi dkk., 2014).

Semua prosedur pada penelitian ini telah dilakukan sesuai dengan kode etik penelitian pada hewan yang diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dengan nomor 1218/UN25.8/KEPK/DL/2021. Masing-masing kolompok diberikan sediaan secara peroral selama 6 hari berturut-turut. Hal tersebut bertujuan untuk memberikan kesempatan kepada sediaan uji (ekstrak) agar dapat meningkatkan sistem imun. Menurut Radji (2015) neutrofil polimorfonuklear (PMN) yang dilepaskan oleh sumsum tulang akan masuk ke dalam darah dan bertahan selama 6-7 jam, kemudian akan masuk ke jaringan dan bertahan selama 4-5 hari. Monosit akan bertahan 1-3 hari di dalam sirkulasi darah dan masuk ke dalam jaringan. PMN dan monosit yang telah dilepaskan oleh sumsum tulang tidak akan lagi mengalami mitosis, sehingga ketika kebutuhan dari sel ini meningkat, maka akan

diproduksi oleh sumsum tulang dan dilepaskan dari persediaan yang sudah ada (Radji, 2015).

Pada hari ke-7 darah mencit diambil pada menit ke-5 dan 15 setelah diinjeksikan karbon. Setelah itu darah dilisis dengan asam asetat 1% dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 640,5 nm. Nilai absorbansi yang didapatkan kemudian digunakan untuk menghitung konstanta fagositosis. Menurut Aldi dkk. (2014), semakin besar nilai konstanta fagositosis yang dihasilkan, maka semakin tinggi kecepatan bersihan karbon, yang berarti semakin cepat sel fagosit dalam memfagositosis partikel karbon. Perbandingan hasil rata-rata, SD, dan analisis statistik konstanta fagositosis pada masing-masing kelompok ditunjukkan pada Tabel 4.1 dan Lampiran 3.6.

Tabel 4.1 Perbandingan hasil rata-rata, SD, dan analisis statistik konstanta fagositosis pada masing-masing kelompok

| Kelompok | Konstanta Fagositosis (Rata-rata \pm SD) |
|--|---|
| Kontrol Negatif (CMCNa 1%) | 0,056 \pm 0,004 ^a |
| Kontrol Positif (Stimuno 6,5 mg/kgBB) | 0,066 \pm 0,009 ^{a,b} |
| Ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 125 mg/kgBB | 0,065 \pm 0,010 ^{a,b} |
| Ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 250 mg/kgBB | 0,078 \pm 0,012 ^{b,c} |
| Ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 500 mg/kgBB | 0,086 \pm 0,006 ^c |

Data dianalisis menggunakan ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji *post hoc Tukey* dengan taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$). Huruf *superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok (nilai $p < 0,05$).

Berdasarkan Tabel 4.1, nilai konstanta fagositosis pada semua kelompok uji lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Kelompok uji dosis 125 mg/kgBB menghasilkan nilai konstanta fagositosis lebih kecil dari kelompok kontrol positif, sedangkan kelompok uji dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB menghasilkan nilai konstanta fagositosis lebih tinggi dari kelompok kontrol positif. Nilai rata-rata tersebut kemudian dianalisis dengan uji analisis variasi (ANOVA) untuk menentukan normalitas dan homogenitas diantara

masing-masing kelompok. Setelah semua kelompok dinyatakan terdistribusi secara normal dan homogen ($p > 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji ANOVA satu arah. Hasil uji ANOVA satu arah diperoleh nilai signifikansi $p < 0,001$ ($p < 0,05$) yang berarti nilai konstanta fagositosis antara masing-masing kelompok perlakuan berbeda secara signifikan (Lampiran 3.7).

Uji lanjutan untuk melihat kelompok perlakuan mana yang memiliki konstanta fagositosis sama atau berbeda antara satu perlakuan dengan perlakuan lain menggunakan uji *post hoc Tukey*. Berdasarkan hasil uji *post hoc Tukey*, menunjukkan bahwa nilai konstanta fagositosis kelompok uji dosis 125 mg/kgBB tidak berbeda signifikan ($p = 0,999$) dengan kelompok kontrol positif. Kelompok uji dosis 250 mg/kgBB menunjukkan nilai yang lebih besar dari dosis 125 mg/kgBB dan berbeda signifikan dengan kontrol negatif ($p = 0,004$). Kelompok uji dosis 500 mg/kgBB memberikan nilai konstanta fagositosis paling besar dan berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif.

Penggunaan variasi dosis ekstrak uji pada penelitian ini dimaksudkan agar peneliti dapat melihat hubungan antara peningkatan dosis ekstrak uji dengan kecepatan fagositosis karbon dalam aliran darah. Berdasarkan hasil rata-rata di atas dapat dilihat bahwa nilai konstanta fagositosis pada masing-masing kelompok uji mengalami peningkatan dibandingkan kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa setiap konsentrasi ekstrak uji dapat memberikan efek imunostimulan. Pada penelitian sebelumnya, stimuno dengan dosis 6,5 mg/kgBB terbukti dapat meningkatkan nilai konstanta fagositosis 0,075 (Erjon dkk., 2020). Hasil konstanta fagositosis pada kelompok uji 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB yang lebih besar dibandingkan kelompok kontrol positif menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut efek imunostimulan yang dihasilkan lebih besar dibandingkan kelompok kontrol positif. Kontrol positif yang digunakan adalah Stimuno® dengan kandungan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri*) yang sudah terbukti secara praklinis maupun klinis dapat memperbaiki sistem imun (imunostimulator) (Muthulakshmi dkk., 2016; BPOM, 2020).

Setelah didapatkan nilai konstanta fagositosis pada masing-masing kelompok, maka dilanjutkan dengan perhitungan indeks fagositosis. Perhitungan

indeks fagositosis dilakukan dengan membandingkan nilai konstanta fagositosis setiap kelompok dengan kelompok kontrol negatif. Indeks fagositosis akan berbanding lurus dengan konstanta fagositosis, yang berarti semakin besar nilai konstanta dan indeks fagositosis, maka semakin cepat pula proses fagositosis yang dilakukan oleh sel-sel fagosit dalam mengeliminasi karbon pada aliran darah. Perbandingan hasil rata-rata, SD, dan analisis statistik indeks fagositosis pada masing-masing kelompok ditunjukkan pada Tabel 4.2 dan Lampiran 3.8.

Tabel 4.2 Perbandingan hasil rata-rata, SD, dan analisis statistik indeks fagositosis pada masing-masing kelompok

| Kelompok | Indeks Fagositosis (Rata-rata \pm SD) |
|--|--|
| Kontrol Negatif (CMCNa 1%) | 1,000 \pm 0,000 ^a |
| Kontrol Positif (Stimuno 6,5 mg/kgBB) | 1,195 \pm 0,135 ^{a,b} |
| Ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 125 mg/kgBB | 1,175 \pm 0,161 ^{a,b} |
| Ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 250 mg/kgBB | 1,417 \pm 0,255 ^{b,c} |
| Ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 500 mg/kgBB | 1,562 \pm 0,156 ^c |

Data tersebut dianalisis menggunakan ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji *post hoc Tukey* dengan taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$). Huruf *superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok (nilai $p < 0,05$).

Pada Tabel 4.2 terlihat bahwa nilai indeks fagositosis pada semua kelompok uji lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Kelompok uji dosis 125 mg/kgBB menghasilkan nilai indeks fagositosis lebih kecil dari kelompok kontrol positif, sedangkan kelompok uji dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB menghasilkan nilai indeks fagositosis lebih tinggi dari kelompok kontrol positif. Nilai rata-rata indeks fagositosis tersebut kemudian dianalisis dengan uji analisis variasi (ANOVA) untuk menentukan normalitas dan homogenitas diantara masing-masing kelompok. Setelah semua kelompok dinyatakan terdistribusi secara normal dan homogen ($p > 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji ANOVA satu arah. Hasil uji ANOVA satu arah diperoleh nilai $p < 0,001$ ($p < 0,05$) yang berarti bahwa nilai indeks fagositosis antara masing-masing kelompok perlakuan berbeda secara signifikan (Lampiran 3.9).

Uji lanjutan untuk melihat kelompok perlakuan mana yang memiliki indeks fagositosis yang sama atau berbeda antara satu perlakuan dengan perlakuan lain dengan menggunakan uji *post hoc Tukey*. Berdasarkan hasil uji *post hoc Tukey*, nilai indeks fagositosis kelompok uji dosis 125 mg/kgBB tidak berbeda signifikan ($p=1,000$) dengan kelompok kontrol positif. Kelompok uji dosis 250 mg/kgBB menunjukkan nilai yang lebih besar dari dosis 125 mg/kgBB dan berbeda signifikan dengan kontrol negatif ($p=0,005$). Kelompok uji dosis 500 mg/kgBB memberikan nilai indeks fagositosis paling besar dan berbeda signifikan ($p<0,05$) dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis maka semakin tinggi pula nilai indeks fagositosis yang dihasilkan. Menurut Dashputre dan Naikwade (2010), semakin tinggi nilai indeks fagositosis yang dihasilkan pada metode bersihan karbon, menunjukkan adanya peningkatan aktivitas fagositosis dari makrofag dan sistem imun non spesifik.

Menurut Erjon dkk. (2020), jika nilai rata-rata indeks fagositosis ($IF>1$) maka zat uji tersebut memiliki kemampuan sebagai imunostimulan. Menurut Nimbalkar dkk. (2018) peningkatan nilai indeks fagositik terhadap kelompok kontrol menunjukkan stimulasi dari sistem retikuloendotelial. Aktivitas fagositosis dari sistem retikuloendotelial umumnya diukur dengan kecepatan penghilangan partikel karbon dari aliran darah. Berdasarkan hasil rata-rata indeks fagositosis di atas, diperoleh nilai rata-rata indeks fagositosis lebih dari satu ($IF>1$) pada semua kelompok uji, sehingga menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang temu giring memiliki aktivitas imunostimulan. Hal ini diperkuat oleh penelitian lain yang dilakukan oleh Rahman dkk. (2016) bahwa nilai rata-rata indeks fagositosis ($IF>1$) pada semua kelompok dosis uji, menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki kemampuan sebagai imunostimulan.

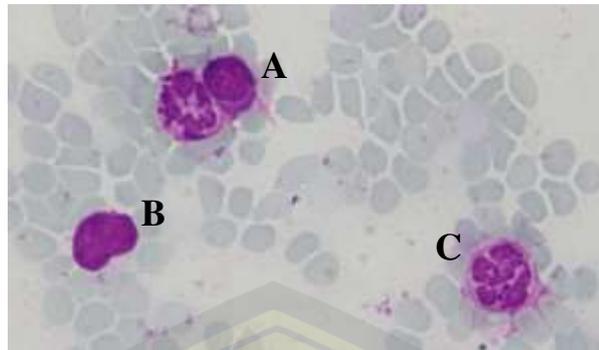
Peningkatan nilai indeks fagositosis pada masing-masing kelompok uji dapat memberikan gambaran efek ekstrak etanol rimpang temu giring terhadap aktivitas fagositosis dari sistem imun. Hal ini disebabkan oleh adanya kandungan senyawa kurkumin yang merupakan konstituen utama dari rimpang temu giring yang berperan sebagai imunostimulan ((Diastuti dkk., 2014; Boroumand dkk.,

2018). Kurkumin diketahui dapat mempengaruhi imunitas bawaan dan adaptif dengan cara memodulasi fungsi sel imun termasuk neutrofil, makrofag, monosit, sel pembunuh alami (sel NK), sel dendritik (DC), sel T, dan sel B (Srivastava dkk., 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Kusumawati dkk. (2018) menyebutkan bahwa ekstrak etanol rimpang temu giring memiliki kandungan kurkumin terbanyak dibandingkan pelarut lainnya seperti etil asetat, heksana, dan metanol, yaitu sebanyak 3,11 mg/g ekstrak.

Pernyataan di atas diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Safia dan Samia (2016) tentang efek ekstrak *Curcuma longa* terhadap aktivitas fagositosis makrofag dengan metode bersihan karbon. Pada penelitian ini disebutkan bahwa peningkatan nilai indeks fagositosis pada masing-masing dosis disebabkan karena adanya kandungan kurkumin yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag dengan cara merangsang sistem retikuloendotelial. Menurut Nassar dkk. (2015) tingkat penghapusan partikel karbon dalam sirkulasi darah dapat diukur dari indeks fagositosis sel-sel fagosit seperti monosit dan makrofag dari sistem retikuloendotelial. Penelitian lain yang dilakukan oleh Antony dkk. (1999) juga menyebutkan bahwa senyawa kurkumin dari *Curcuma longa* dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag pada mencit yang diinduksi sel darah merah domba.

4.2 Perhitungan Jumlah Leukosit

Selain menggunakan metode bersihan karbon, uji aktivitas imunomodulator ekstrak etanol rimpang temu giring dilakukan dengan perhitungan jumlah jenis sel leukosit dengan metode hapusan darah. Sel leukosit seperti limfosit, monosit, dan neutrofil dihitung di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x menggunakan minyak imersi sebagai penjelas dan giemsa sebagai pewarna (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Gambaran sel limfosit (A), monosit (B), dan neutrofil (C) menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x dan pewarna giemsa.

Pada penelitian ini perhitungan jumlah sel eosinofil tidak diamati karena eosinofil memiliki konsentrasi yang sangat kecil (2-4% dari leukosit yang bersirkulasi) dan jumlahnya akan meningkat oleh adanya reaksi alergi (Ashton, 2010; Glenn dan Armstrong, 2019). Sedangkan basofil tidak dapat diamati karena sel ini bersifat basa dan larut terhadap pewarna giemsa (Aldi dkk., 2014). Selain itu, peningkatan dari sel eosinofil dan basofil ditimbulkan karena adanya respon imun terhadap parasit dan cacing (Eberle dan Voehringer, 2016).

Aktivitas anthelmintik dari rimpang temu giring dalam melawan ascaris babi (*Ascaris lumbricoides*) ditemukan terjadi pada fraksi minyak esensialnya (Firman dkk., 1988). Pada penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa senyawa zedoarondiol (seskuiterpen lakton) yang diisolasi dari rimpang *C. heyneana* dapat menghambat sitotoksitas yang diinduksi D-galaktosamin pada hepatosit tikus kultur primer dan produksi NO yang diinduksi LPS pada kultur makrofag peritoneum tikus. NO telah dilaporkan memiliki efek mikrobiosidal, anti-virus, anti-parasit, dan anti-tumor (Cho dkk., 2009). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas dari ekstrak etanol rimpang temu giring terhadap partikel karbon sebagai antigen. Perbandingan jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil pada masing-masing kelompok ditunjukkan pada Tabel 4.3 dan Lampiran 3.10.

Tabel 4.3 Perbandingan jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil pada masing-masing kelompok pada hari ke-7

| Kelompok | Jumlah Limfosit (% ± SD) | Jumlah Monosit (% ± SD) | Jumlah Neutrofil (% ± SD) |
|--|-----------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Kontrol Negatif (CMCNa 1%) | 52,8 ± 4,0 ^a | 9,6 ± 1,1 ^d | 21,6 ± 3,4 ^f |
| Kontrol Positif (Stimuno 6,5 mg/kgBB) | 60,6 ± 7,4 ^{a,b,c} | 12,0 ± 2,7 ^d | 31,0 ± 5,5 ^g |
| Ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 125 mg/kgBB | 56,2 ± 6,8 ^{a,b} | 11,8 ± 2,3 ^d | 29,6 ± 3,8 ^{f,g} |
| Ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 250 mg/kgBB | 64,0 ± 4,5 ^{b,c} | 12,6 ± 3,6 ^d | 32,2 ± 4,9 ^g |
| Ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 500 mg/kgBB | 68,4 ± 4,3 ^c | 19,4 ± 4,7 ^e | 35,0 ± 3,3 ^g |

Data tersebut dianalisis menggunakan ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji *post hoc Tukey* dengan taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$). Huruf *superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok (nilai $p < 0,05$).

Berdasarkan hasil tersebut dapat dilihat bahwa jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil kelompok uji dengan dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif. Jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil pada dosis 125 mg/kgBB lebih besar dari kelompok kontrol negatif tetapi lebih kecil dari kelompok kontrol positif. Hasil perhitungan jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil kemudian dianalisis dengan uji ANOVA satu arah untuk menentukan normalitas dan homogenitas diantara masing-masing kelompok. Setelah semua kelompok dinyatakan terdistribusi secara normal dan homogen ($p > 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji ANOVA satu arah. Hasil signifikansi uji ANOVA satu arah diperoleh jumlah sel limfosit yaitu $p = 0,002$; monosit $p = 0,001$; dan neutrofil $p = 0,001$. Hasil uji ANOVA satu arah pada semua jenis sel leukosit tersebut memiliki nilai $p < 0,05$ yang berarti jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil antara masing-masing kelompok perlakuan berbeda secara signifikan (Lampiran 3.11-3.13).

Analisis dilanjutkan dengan uji *post hoc Tukey* untuk melihat kelompok perlakuan mana yang memiliki jumlah sel yang sama atau berbeda antara satu

kelompok dengan kelompok yang lain. Hasil uji lanjut *post hoc Tukey* setelah pemberian ekstrak etanol rimpang temu giring selama 6 hari diperoleh hasil bahwa jumlah sel limfosit dan monosit pada kelompok uji dosis 500 mg/kgBB paling tinggi dibandingkan dua dosis lainnya dan berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan semua kelompok perlakuan. Jumlah sel neutrofil tertinggi juga diperoleh dari kelompok uji dosis 500 mg/kgBB dan berbeda signifikan ($p = 0,001$) dengan kelompok kontrol negatif. Peningkatan jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil pada darah tepi mencit setelah diinjeksikan karbon menunjukkan adanya peningkatan aktivitas fagositosis. Hal ini sebanding dengan peningkatan nilai konstanta dan indeks fagositosis pada metode bersihan karbon.

Menurut Baratawidjaja dan Rengganis (2018), sistem imun spesifik maupun nonspesifik seperti neutrofil, basofil, eosinofil, makrofag, dan sel limfoid (seperti limfosit B, T, dan NK) berfungsi melindungi tubuh terhadap adanya antigen yang masuk dengan meningkatkan aktivitas fagositosis secara cepat dan efisien. Menurut Pringguotomo dkk. (2002), saat terjadi inflamasi akut, sel yang paling banyak bereaksi adalah sel neutrofil. Sel ini akan berpindah ke area infeksi atau cedera dalam 24 jam pertama sebagai fase awal. Pada waktu yang sama, sel monosit akan bermigrasi tetapi dalam jumlah yang lebih sedikit dan dengan kecepatan yang lambat (Bonardo dkk., 2015). Begitu pun dengan limfosit, sel ini akan masuk ke area peradangan dalam waktu 24-48 jam (Ackermann, 2017).

Upaya yang dilakukan oleh tubuh untuk mempertahankan dirinya terhadap masuknya antigen yaitu dengan menghancurkan antigen yang bersangkutan secara non spesifik melalui proses fagositosis. Peranan penting dalam pertahanan seluler non-spesifik ini dilakukan oleh makrofag dan neutrofil (Kresno, 2010). Sel-sel fagosit tersebut mampu melindungi tubuh tanpa adanya antibodi dengan mencerna dan memusnahkan antigen yang masuk ke dalam tubuh. Neutrofil atau polimorfonuklear (PMN) merupakan lini pertama pertahanan tubuh terhadap adanya patogen infeksius. Sel ini akan bermigrasi pertama kali dari darah ke area yang terinfeksi untuk memfagositosis dan membunuh patogen (Dashputre dan Naikwade, 2010).

Limfosit merupakan salah satu jenis sel leukosit yang memiliki peranan yang sangat penting dalam sistem kekebalan tubuh. Sel ini akan merespon benda asing (antigen) yang masuk ke dalam tubuh melalui sistem imunitas humoral maupun imunitas seluler (Koolman & Rohm, 2001). Sel *T helper* (Th) dengan molekul penanda CD4+ akan mengaktivasi sel limfosit T dan menginduksi respon imun seluler. Sedangkan sel *T cytotoxic* (Tc) dengan penanda CD8+ memegang peran penting dalam mengaktivasi dan mengarahkan sel imun lainnya untuk mengeliminasi benda asing yang masuk. Sel *T helper* juga memiliki peranan penting dalam proliferasi sel *T cytotoxic* maupun meningkatkan aktivitas fagositik makrofag. Jumlah CD4+ sel limfosit akan meningkat karena adanya senyawa bioaktif yang bersifat imunomodulator (Baeke dkk., 2010; Takahasyi dkk., 2014; Yan dkk., 2014; Roit dkk., 2011).

Hasil perhitungan jumlah sel leukosit di atas menunjukkan bahwa semua variasi dosis ekstrak etanol rimpang temu giring dapat meningkatkan jumlah jenis sel leukosit dibandingkan kelompok kontrol negatif. Peningkatan jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil akibat pemberian ekstrak etanol rimpang temu giring menunjukkan bahwa ekstrak ini berpotensi sebagai imunostimulan. Hal tersebut diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Rahman dkk. (2016) bahwa sel yang sangat berperan dalam proses fagositosis yaitu, sel limfosit, monosit, dan neutrofil. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Roseno dkk. (2019) tentang uji aktivitas imunomodulator dengan metode bersihan karbon juga terjadi peningkatan jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil pada ekstrak yang memiliki aktivitas imunostimulan. Penelitian ini juga menyatakan bahwa peningkatan aktivitas fagositosis karena adanya partikel karbon sebagai antigen berkorelasi kuat dengan peningkatan kadar leukosit terutama neutrofil dalam darah tepi.

Efek terapeutik kurkumin dimediasi melalui efek stimulasi kekebalan yang ditunjukkan oleh peningkatan jumlah neutrofil dalam darah tepi (Savitha dkk., 2015). Menurut Iman dkk. (2016), peningkatan jumlah sel monosit juga disebabkan karena stimulasi zat kurkumin yang berfungsi sebagai imunostimulan. Sebuah studi *in vivo* pada model tikus menunjukkan bahwa kurkumin dapat

meningkatkan populasi sel T CD8⁺ dan sel NK. Efek imunomodulasi kurkumin pada CD8⁺ dan subset sel T CD4⁺ telah sering ditemukan pada penelitian sebelumnya (Varalakshmi dkk., 2008). Kurkumin memediasi efek anti-inflamasi melalui penurunan regulasi faktor transkripsi nuklir faktor- κ B (NF- κ B), *tumor necrosis factor* (TNF), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), molekul adhesi, *inducible nitric oxide synthase* (iNOS), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), siklooksigenase-2 (COX-2), 5-lipoksigenase (5-LOX), dan IL-10 (Savitha dkk., 2015; Mollazadeh dkk., 2019). IL-10 merupakan sitokin anti-inflamasi yang bekerja dengan cara menekan aktivasi dan fungsi sel imun. Tindakan antiinflamasi dari IL-10 termasuk menekan ekspresi molekul penyaji antigen dan kostimulator pada monosit/makrofag, neutrofil, dan sel T (Mollazadeh dkk., 2019).

Peningkatan jumlah sel limfosit pada penelitian ini juga disebabkan karena adanya kandungan senyawa flavonoid pada rimpang temu giring. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Patroni dan Yuniarti (2003) dalam Putra dkk. (2020) bahwa flavonoid bekerja dengan meningkatkan aktivitas dari IL-12 dan proliferasi sel limfosit. Sel CD4⁺ akan mengaktifkan sel Th-1 dengan mempengaruhi proliferasi dari sel limfosit. Setelah sel Th-1 teraktivasi, sel ini akan mempengaruhi IFN- γ sehingga dapat mengaktifkan makrofag dan meningkatkan aktivitas fagositosisnya dalam membunuh antigen secara cepat dan lebih efisien. Berdasarkan penjelasan tersebut dapat disimpulkan bahwa adanya peningkatan jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil disebabkan karena adanya kandungan kurkumin dan flavonoid pada ekstrak temu giring.

BAB 5. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang uji aktivitas imunomodulator ekstrak etanol rimpang temu giring (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp) pada mencit dengan metode bersihan karbon, dapat disimpulkan bahwa:

1. Nilai indeks fagositosis sel makrofag mencit yang diberi ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 500 mg/kgBB memberikan nilai indeks fagositosis paling besar dan berbeda dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif.
2. Jumlah sel limfosit dan monosit darah tepi mencit yang diberi ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 500 mg/kgBB paling tinggi dan berbeda dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif. Jumlah sel neutrofil tertinggi diperoleh dari ekstrak etanol rimpang temu giring dosis 500 mg/kgBB dan berbeda dengan kontrol negatif.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya, yaitu:

1. Peneliti perlu melakukan studi lebih lanjut terkait kandungan senyawa aktif pada rimpang temu giring yang berpotensi sebagai imunomodulator khususnya imunostimulan.
2. Peneliti perlu melakukan studi lebih lanjut terhadap aktivitas imunomodulator pada fraksi-fraksi dari ekstrak rimpang temu giring.

DAFTAR PUSTAKA

- Ackermann, M. R. 2017. Chapter 3. Inflammation and Healing. Dalam *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. Editor J. F. Zachary. USA: Elsevier.
- Adila, R., Nurmiati, dan A. Agustien. 2013. Uji antimikroba *Curcuma spp.* terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2(1):1–7.
- Aldi, Y., D. Dillasamola, dan G. R. Yanti. 2019. Immunomodulator activity of ethanol extract of tapak liman leaves (*Elephantopus scaber* Linn.). *Pharmacognosy Journal*. 11(6):1419–1427.
- Aldi, Y., N. Ogiana, dan D. Handayani. 2014. Uji imunomodulator beberapa subfraksi ekstrak etil asetat meniran (*Phyllanthus niruri* L.) pada mencit putih jantan dengan metoda carbon clearance. *B-Dent, Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah*. 1(1):70–82.
- Alexander, T., E. Maxim, L. A. Cardwell, A. Chawla, dan S. R. Feldman. 2018. Prescriptions for atopic dermatitis: oral corticosteroids remain commonplace. *Journal of Dermatological Treatment*. 29(3):238–240.
- Antony, S., R. Kuttan, dan G. Kuttan. 1999. Immunomodulatory activity of curcumin. *Immunological Investigations*. 28(5–6):291–303.
- Aprilliani, A., H. Damayanti, dan Z. P. Dewianti. 2019. Review artikel: pengobatan tradisional dan aktivitas farmakologi rimpang temu giring (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp). *Jurnal Farmagazine*. 6(2):27.
- Ashton, N. 2010. Physiology of red and white blood cells. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*. 11(6):236–241.
- Backer, dan Van Den Brink, B. 1968. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*. Leyden: The Auspices of The Rukserbarium.
- Baeke, F., Korf, H., Overbergh, L. 2010. Human T lymphocytes are direct targets of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in the immunesystem. *J. Steroid Biochem and Molecular Biol*. 121(2): 221–227
- Baratawidjaja, K.G. 2006. *Imunologi Dasar. Edisi VII*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Baratawidjaja, K. G. dan Rengganis, I. 2010. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Baratawidjaja, K. G. dan Rengganis, I. 2018. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Bellanti, J.A. 1985. *Immunology. Edisi III*. Philadelphia: Saunders.
- Bonardo, B., H. Christina, C. Fransisca, K. Kristin, dan J. Sudiono. 2015. Peran monosit (makrofag) pada proses angiogenesis dan fibrosis. *Seminar Nasional Cendekiawan*. 254–259.

- Bos, R., Windono, T., Woerdenbag, H. J., Boersma, Y. L., Koulman, A., dan Kayser, O. 2007. HPLC-photodiode array detection analysis of Curcuminoids in *Curcuma species* indigenous to Indonesia. *Phytochemical Analysis*. 18(2):118–122.
- BPOM. 2020. *Informatorium Obat Modern Asli Indonesia (OMAI) di Masa Pandemi COVID-19*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan
- Boroumand, N., S. Samarghandian, dan S. I. Hashemy. 2018. Immunomodulatory, anti-inflammatory, and antioxidant effects of curcumin. *Journal of HerbMed Pharmacology*. 7(4):211–219.
- Brown, E. J. 1995. Phagocytosis. *BioEssays*. 17(2):109–117.
- Cho, W., J. W. Nam, H. J. Kang, T. Windono, E. K. Seo, dan K. T. Lee. 2009. Zedoarondiol isolated from the rhizoma of *Curcuma heyneana* is involved in the inhibition of inos, COX-2 and pro-inflammatory cytokines via the downregulation of NF- κ b pathway in LPS-stimulated murine macrophages. *International Immunopharmacology*. 9(9):1049–1057.
- Colville, T. dan J. M. Bassert. 2016. *Clinical Anatomy and Physiology for Veterinary Technicians*. USA: Elsevier.
- Crane, N. J., S. W. Huffman, F. A. Gage, I. W. Levin, dan E. A. Elster. 2003. Evidence of a heterogeneous tissue oxygenation : renal ischemia/reperfusion injury in a large animal. *Journal of Biomedical Optics*. 18(3):035001–035007.
- Dashputre, N. L. dan N. S. Naikwade. 2010. Immunomodulatory activity of abutilon indicum linn on albino mice. *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*. 1(3):178–184.
- Diastuti, H., Y. Maolana Syah, L. Dewi Juliawaty, dan M. Singgih. 2014. Antibacterial activity of germacrane type sesquiterpenes from *Curcuma heyneana* rhizomes. *Indonesian Journal of Chemistry*. 14(1):32–36.
- Eberle, J. U. dan D. Voehringer. 2016. Role of basophils in protective immunity to parasitic infections. *Seminars in Immunopathology*. 38(5):605–613.
- Erjon, R. Jovanka, S. Meisyayati. 2020. Efek imunostimulan ekstrak etanol daun seledri terhadap mencit putih jantan. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*. 9(1):1–7.
- Faradilla, M. dan M. Immaculata Iwo. 2014. Efek Imunomodulator Polisakarida Rimpang Temu Putih [*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe]. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 12(2):273–278.
- Firman, K., T. Kinoshita, A. Itai, dan U. Sankawa. 1988. Terpenoids from *Curcuma heyneana*. *Phytochemistry*. 27(12):3887–3891.
- Flaherty, D. 2012. *Immunology for Pharmacy*. Charleston: Elsevier.

- Flannagan, R. S., V. Jaumouill, dan S. Grinstein. 2012. *The Cell Biology Phagocytosis*. Canada: University of Chicago Libraries.
- Ganeshpurkar, A. dan A. K. Saluja. 2017. Experimental animal models used for evaluation of potential immunomodulators: a mini review. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*. 55(2):211–216.
- Getz, G.S. 2005. Bridging the innate and adaptive immune systems. *Journal Lip Res*. 46:619-22.
- Glenn, A. dan C. E. Armstrong. 2019. Physiology of red and white blood cells. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*. 20(3):170–174.
- Hendrian, H., dan Hadiah, J. T. 1999. *Koleksi Tumbuhan Obat Kebun Raya Bogor*. Bogor: UPT Balai Pengembangan Kebun Raya LIPI.
- Hidayah, I. N. dan R. B. Indradi. 2020. Review artikel: aktivitas imunomodulator beberapa tanaman dari suku Zingiberaceae. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*. 20(2):181–193.
- Iman, K.N., M. Riauваты, dan H. Syawal. 2016. Diferensiasi leukosit ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang diberi pakan dengan penambahan ekstrak kurkumin kunyit (*Curcumin domestica* V.). *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan*. 4
- Jalil, M. 2019. Temu giring (*Curcuma heyneana* Val.): sebuah tinjauan morfologi, fitokimia, dan farmakologi. *Journal Of Biology Education*. 2(2):104.
- Jantan, I., W. Ahmad, dan S. N. A. Bukhari. 2015. Plant-derived immunomodulators: an insight on their preclinical evaluation and clinical trials. *Frontiers in Plant Science*. 6(AUG):1–18.
- Kandy, A. P. 2016. Uji Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. rubrum) dan daun sidauguri (*Sida rhombifolia* L.) terhadap Jumlah Neutrofil Tikus yang Diinduksi Karagenin. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Katzung, B. G. 2011. *Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi III*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Kemendag. 2014. *Minyak Atsiri (HS 3301)*. Berlin: Atase Perdagangan Kbri Berlin.
- Koolman, J. dan Rohm, K. H., 2001. *Biokimia: Atlas Berwarna dan Teks*. Alih Bahasa Sadikin M. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Kresno, B.S. 2001. *Imunologi: Diagnosis dan Proses Laboratorium. Edisi IV*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Kresno, B.S. 2010. *Imunologi: Diagnosis dan Proses Laboratorium. Edisi V*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

- Kusmardi, S. Kumala, E. E. Triana. 2007. Efek imunomodulator ekstrak daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag. *Makara, Kesehatan*. 11(2):50–53.
- Kusumawati, I., K. O. Kurniawan, S. Rullyansyah, T. A. Prijo, R. Widyowati, J. Ekowati, E. P. Hestianah, S. Maat, dan K. Matsunami. 2018. Anti-aging properties of *Curcuma heyneana* Valetton & Zipj: A scientific approach to its use in javanese tradition. *Journal of Ethnopharmacology*. 225:64–70.
- Kusumna, A. M., Y. Asarina, Y. I. Rahmawati, dan Susanti. 2016. Effect of dayak garlic (*Eleutherine palmifolia* (L.)Merr) extract and sweet purple potato (*Ipomoea batatas* L) extract on lowering cholesterol and triglyceride blood levels in male rats. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 6(2):108–116.
- Leskowitz, S. dan Benjamini, E. 1991. *Imunology: A Short Course (2nd Edition)*. New York: Willey Liss.
- Lianah. 2019. *Biodiversitas Zingiberaceae Mijen Kota Semarang*. Semarang: Deepublish.
- Lukiati, B. dan W. Darmanto. tanpa tahun. The effects of curcuma heyneana ethanolic extract on the superoxide dismutase activity and histological pancreas of type 1 diabetes mellitus rats. *International Journal of Basic & Applied Sciences IJBAS-IJENS*. 12(22):123702–128585.
- Martinus., T. Agustin, A. S. Dachlan., dan E. H. Effendi. 2019. Penggunaan Immunostimulan dalam bidang dermatovenereologi. *Mdvi*. 46:111–115
- Marshall, J. S., R. Warrington, W. Watson, dan H. L. Kim. 2018. An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, Asthma and Clinical*. 14:1–10.
- Mollazadeh, H., A. F. G. Cicero, C. N. Blesso, M. Pirro, M. Majeed, dan A. Sahebkar. 2019. *Immune Modulation by Curcumin: The Role of Interleukin-10*. 1. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- Muhlisah, F. 1999. *Temu-Temuan dan Empon-emponan Budidaya dan Manfaatnya*. Yogyakarta: Kanisius.
- Munasir, Z. 2016. Respons imun terhadap infeksi bakteri. *Sari Pediatri*. 2(4):193.
- Muthia, R. dan K. I. Astuti. 2018. Efek imunomodulator infusa umbi bawang dayak (*Eleutherina palmifolia* (L.)Merr) dengan metode bersihan karbon. *Jurnal Pharmascience*. 5(1):63–70.
- Muthulakshmi, M., P. A. Subramani, dan R. D. Michael. 2016. Immunostimulatory effect of the aqueous leaf extract of phyllanthus niruri on the specific and nonspecific immune responses of oreochromis mossambicus peters. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 17(3):200–202.
- Nafrialdi. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi V*. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran UI.

- Nair, A., D. Chattopadhyay, dan B. Saha. 2018. *Plant-Derived Immunomodulators*. Elsevier Inc. *New Look to Phytomedicine: Advancements in Herbal Products as Novel Drug Leads*.
- Narendra, K., J. Swathi, K. Sowjanya, dan A. Satya Savithri. 2012. *Phyllanthus niruri*: a review on its ethno botanical, phytochemical and pharmacological profile. *Journal of Pharmacy Research*. 5(9):4681–4691.
- Nassar, M., S. Zerizer, Z. Kabouche, A. Kabouche, dan S. Bechkri. 2015. Antioxidant and the immunomodulatory activities exhibited by three plants from lamiaceae family. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7(9):331–334.
- Nimbalkar, V. V, U. E. Kadu, R. P. Shelke, S. A. Shendge, P. N. Tupe, dan P. M. Gaikwad. 2018. Evaluation of immunomodulatory activity of diosgenin in rats. *International Journal of Clinical and Biomedical Research*. 70–75.
- Nur, M. R., A. Mu'nisa, dan Y. Hala. 2019. Skrining fitokimia ekstrak metanol karang lunak *Lobophytum sp.* *Bionature*. 20(1):57–63.
- Nuraeni, C., & Yunilawati, R. 2012. Identifikasi komponen kimia minyak atsiri temugiring (*Curcuma heyneana* Val. & Zijp) dan temukunci (*Kaempheria pandurata* Roxb.) hasil distilasi air-uap. *Jurnal Kimia dan Kemasan*. 34(1):187–191.
- O'Connell, K. E., A. M. Mikkola, A. M. Stepanek, A. Vernet, C. D. Hall, C. C. Sun, E. Yildirim, J. F. Staropoli, J. T. Lee, dan D. E. Brown. 2015. Practical murine hematopathology: a comparative review and implications for research. *Comparative medicine*. 65(2): 96–113.
- Parasuraman, S., R. Raveendran, dan R. Kesavan. 2010. Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 1(2):87–93.
- Patel, N. dan A. Mishra. 2015. Automated leukaemia detection using microscopic images. *Procedia Computer Science*. 58:635–642.
- Pringgutomo, S., S. Himawan, dan A. Tjarta. 2002. *Patologi I (Umum) Edisi ke-1*. Jakarta: Sagung Seto.
- Puri, S., dan Bagchi, K. (1993). Free Radical and Antioxidant in Health and Disease. *Eastern Mediterranean Health Journal*. 4(2):1979-249.
- Putra, B., R. N. Azizah, dan E. M. Nopriyanti. 2020. Efek imunomodulator ekstrak etanol herba krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan parameter delayed type hypersensitivity (dth). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*. 6(1):20–25.
- Radji, M. 2015. *Imunologi dan Virologi*. Edisi revisi. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan.

- Rahman, H., Y. Aldi, dan E. Mayanti. 2016. Aktifitas imunomodulator dan jumlah sel leukosit dari ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) pada mencit putih jantan. *Jurnal Farmasi Higea*. 8(1):44–58.
- Rahmi, E. P. 2011. Efek Imunomodulator ekstrak rimpang temu giring (*Curcuma heyneana* Val. et van Zijp.) terhadap respon hipersensitivitas tipe lambat dan titer antibodi sel imun mencit jantan. *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Rodak, B. F. dan J. H. Carr. 2017. *Clinical Hematology Atlas*. New Jersey: Saunders.
- Roit, I. M. 1989. *Imunologi. Edisi Kedelapan*. Jakarta: Widya Medika
- Roitt I, Brostoff J, dan Male D. 2006. *Immunology. Sixth edition*. Toronto: Mosby Elsevier Science Limited.
- Roitt. 2011. *Essential Immunology. 12th edition*. Oxford: Blackwell Science Limited.
- Rosales, C., N. Demarex, C. A. Lowell, dan E. Uribe-Querol. 2016. Neutrophils: their role in innate and adaptive immunity. *Journal of Immunology Research*. 2016:2–4.
- Roseno, M., Y. Sudaryat, dan Widyastiwi. 2019. Aktivitas imunomodulator ekstrak etanol kemukus (*Piper cubeba*), kiseureuh (*Piper aduncum*), dan cabe jawa (*Piper retrofractum*) pada mencit jantan galur balb/c. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 17(2):255–261.
- Safia, B., dan M. Samia. 2016. The effect of *Curcuma longa* on phagocytic activity. *Tesis*. Algeria: Faculty of Sciences Constantine University.
- Saifudin, A., K. Tanaka, S. Kadota, dan Y. Tezuka. 2013. Sesquiterpenes from the rhizomes of *Curcuma heyneana*. *Journal of Natural Products*. 76(2):223–229.
- Salim, Z., Munadi, E., Nugroho, R.A., Ningsih, E.A., Paryadi, D., Utama, R., Saputri, A.S., Andrian, N., Faradila, F. 2017. *Info Komoditi Tanaman Obat. Edisi 1*. Jakarta: Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia
- Santoso, H. B. 1998. *Toga 2 Tanaman Obat Keluarga. Edisi Kedelapan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Santoso, H. B. 2008. *Ragam dan Khasiat Tanaman Obat*. Yogyakarta: Agro Media.
- Saroj, P., M. Verma, K. K. Jha, dan M. Pal. 2012. An overview on immunomodulation. *Journal of Advanced Scientific Research*. 3(1):7–12.
- Savitha, D., I. Mani, G. Ravikumar, dan S. T. Avadhany. 2015. Effect of

- curcumin in experimental peritonitis. *Indian Journal of Surgery*. 77(6):502–507.
- Scott, A.S., dan E. Fong, 2017. *Body Structure and Function. Thirteenth Edition*. USA: Cengage Learning.
- Sebayang, L. B., A. S. Hasibuan. 2021. Uji efek imunomodulator VCO (Virgin Coconut Oil) pada tikus jantan. *Jurnal Bios Logos*. 11(2):139–146.
- Slobbe, L. 2012. *Drugs That Act on the Immune System: Immunosuppressive and Immunostimulatory Drugs*. Edisi 1. Elsevier B.V. *Side Effects of Drugs Annual 34*.
- Srivastava, R. M., S. Singh, S. K. Dubey, K. Misra, dan A. Khar. 2011. Immunomodulatory and therapeutic activity of curcumin. *International Immunopharmacology*. 11(3):331–341.
- Suardana, I. B. K. 2017. Diklat imunologi dasar sistem imun. [Http://Simdos.Unud.Ac.Id](http://Simdos.Unud.Ac.Id). 1–36.
- Subowo, A. 2009. *Imunobiologi. Edisi II*. Jakarta: Sagung Seto
- Sudiono, J. 2014. *Sistem Kekebalan Tubuh*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Syamsuhidayat, S. S., dan Hutapea, J. R. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI.
- Takahashi, A., Watanabe, T., Mondal, A. 2014. Mechanism based inhibition of cancer metastasis with epigallocatechingallate. *Biochem and Biophysical Research Communications*. 443(1): 1–6.
- Tartaro, K., M. Vanvolkenburg, D. Wilkie, T. M. Coskran, J. M. Kreeger, T. T. Kawabata, dan S. Casinghino. 2015. Development of a fluorescence-based in vivo phagocytosis assay to measure mononuclear phagocyte system function in the rat. *Journal of Immunotoxicology*. 12(3):239–246.
- Tizard, I. 2018. *Veterinary Immunology*. Texas: Elsevier.
- Tjandrawinata, R. R., L. W. Susanto, dan D. Nofiarny. 2017. The use of *Phyllanthus niruri* L. as an immunomodulator for the treatment of infectious diseases in clinical settings. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 7(3):132–140.
- Tukiman, T. 2004. *Pemanfaatan Tanaman Obat Keluarga (TOGA) Untuk Kesehatan Keluarga*. Medan: USU digital library.
- Varalakshmi, C., A. M. Ali, B. V. V. Pardhasaradhi, R. M. Srivastava, S. Singh, dan A. Khar. 2008. Immunomodulatory effects of curcumin: in-vivo. *International Immunopharmacology*. 8(5):688–700.
- Wagner, H., dan Jurcic, K. 1991. *Assays for Immunomodulation and Effects on*

Mediators of inflammation. In Methods in Plant Biochemistry. London: Academic Press.

Wiyanti, W. R. dan S. Endrawati. 2017. Pengaruh uji efek tonikum ekstrak etanol rimpang temu giring (*Curcuma heyneana* Val) terhadap mencit. *Indonesian Journal on Medical Science.* 4(1):25–32.

WHO (World Health Organization). 2003. *Manual of Basic Techniques for A Health Laboratory. Second Edition.* USA: WHO. Terjemahan oleh alih bahasa, Chairlan, E. Lestari dan editor A. A. Mahode. 2011. *Pedoman Teknik Dasar Untuk Laboratorium Kesehatan. Edisi 2.* Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Yan, Z. F., Liu, N. X., Mao, X. X., Li, Y., Li, C. T., 2014. Activation effects of polysaccharides of *Flammulina velutipes* mycorrhizae on the T lymphocyte immune function. *Journal of Immunology Research.* 1:1-7.

Yuandani, I. Jantan, A. S. Rohani, dan I. B. Sumantri. 2021. Immunomodulatory effects and mechanisms of *Curcuma* species and their bioactive compounds: a review. *Frontiers in Pharmacology.* 12:1–26.

Yustin, L. dan E. Wijayanti. 2018. Aktivitas antioksidan sari rimpang temu giring (*Curcuma heyneana*) terfermentasi *Lactobacillus bulgaricus*. *JC-T (Journal Cis-Trans): Jurnal Kimia Dan Terapannya.* 2(1):1–5.

Zahara, M., M. Hasanah, dan R. Zalianda. 2018. Identification of Zingiberaceae as medicinal plants in gunung cut village, aceh barat daya, indonesia. *Journal of Tropical Horticulture.* 1(1):24.

Lampiran 3.2 Perhitungan Dosis Stimuno Forte® 6,5 mg/kgBB

- Berat mencit secara umum = 20 g
- Jumlah larutan yang disonde 20 gBB = 0,2 mL
- Berat stimuno yang diberikan = $\frac{20 \text{ g} \times 6,5 \text{ mg}}{1000 \text{ gBB}}$
= 0,13 mg/20kgBB → dalam 0,2mL
- Volume yang dibutuhkan
= Σ mencit x volume pemberian x Σ lama pemberian
= 5 ekor x 0,2 x 6 hari
= 6 mL → volume dibulatkan menjadi 10 mL
- Jumlah stimuno yang ditimbang untuk 10 mL
= $\frac{0,13 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL}$
= 6,5 mg stimuno dalam 10 mL CMCNa 1%
- 1 kapsul stimuno memiliki kandungan 50 mg ekstrak meniran
- Isi serbuk dalam 1 kapsul = 0,2539 gram, maka jumlah serbuk yang ditimbang:
 $\frac{0,2539 \text{ g stimuno}}{50 \text{ mg stimuno}} = \frac{x \text{ gram serbuk stimuno}}{6,5 \text{ mg serbuk stimuno}}$
x = 0,033 mg serbuk stimuno yang dilarutkan dalam 10 mL CMCNa 1%

Lampiran 3.3 Perhitungan Dosis Ekstrak Etanol Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp)

3.3.1 Perhitungan dosis ekstrak etanol rimpang temu giring 125 mg/kgBB

- Berat mencit secara umum = 20 g
- Jumlah larutan yang disonde 20 gBB = 0,2 mL
- Berat stimulo yang diberikan = $\frac{20 \text{ g} \times 125 \text{ mg}}{1000 \text{ gBB}}$
= 2,5 mg/20kgBB → dalam 0,2mL
- Volume yang dibutuhkan
= Σ mencit x volume pemberian x Σ lama pemberian
= 5 ekor x 0,2 x 6 hari
= 6 mL → volume dibulatkan menjadi 10 mL
- Jumlah ekstrak yang ditimbang untuk 10 mL
= $\frac{2,5 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL}$
= 125 mg ekstrak dalam 10 mL CMCNa 1%

3.3.2 Perhitungan dosis ekstrak etanol rimpang temu giring 250 mg/kgBB

- Berat mencit secara umum = 20 g
- Jumlah larutan yang disonde 20 gBB = 0,2 mL
- Berat stimulo yang diberikan = $\frac{20 \text{ g} \times 250 \text{ mg}}{1000 \text{ gBB}}$
= 5 mg/20kgBB → dalam 0,2mL
- Volume yang dibutuhkan
= Σ mencit x volume pemberian x Σ lama pemberian
= 5 ekor x 0,2 x 6 hari
= 6 mL → volume dibulatkan menjadi 10 mL
- Jumlah ekstrak yang ditimbang untuk 10 mL
= $\frac{5 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL}$
= 250 mg ekstrak dalam 10 mL CMCNa 1%

3.3.3 Perhitungan dosis ekstrak etanol rimpang temu giring 500 mg/kgBB

- Berat mencit secara umum = 20 g
- Jumlah larutan yang disonde 20 gBB = 0,2 mL
- Berat stimulo yang diberikan = $\frac{20 \text{ g} \times 500 \text{ mg}}{1000 \text{ gBB}}$
= 10 mg/20kgBB → dalam 0,2mL
- Volume yang dibutuhkan
= Σ mencit x volume pemberian x Σ lama pemberian
= 5 ekor x 0,2 x 6 hari
= 6 mL → volume dibulatkan menjadi 10 mL
- Jumlah ekstrak yang ditimbang untuk 10 mL
= $\frac{10 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL}$
= 500 mg ekstrak dalam 10 mL CMCNa 1%

Lampiran 3.4 Dokumentasi Penelitian

a) Ekstrak etanol rimpang temu giring



b) Penimbangan bahan



c) Sediaan larutan CMCNa 1%, stimuno, dan skstrak etanol temu giring



- d) Injeksi karbon secara intravena pada ekor mencit



- e) Melisiskan darah dalam asam asetat 1%



- f) Pewarnaan preparat dengan giemsa



Lampiran 3.5 Nilai Absorbansi Darah Tepi Mencit Pada Menit ke-5 dan 15 Setelah Diinjeksikan Karbon

| Kelompok | Waktu | Absorbansi | | | | |
|--|-------|------------|-------|-------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Kontrol Negatif | 5 | 0.362 | 0.359 | 0.384 | 0.417 | 0.413 |
| | 15 | 0.359 | 0.365 | 0.372 | 0.397 | 0.381 |
| Kontrol Positif (Stimuno 6,5 mg/kgBB) | 5 | 0.31 | 0.254 | 0.356 | 0.38 | 0.338 |
| | 15 | 0.337 | 0.216 | 0.281 | 0.359 | 0.345 |
| Dosis 125 mg/Kg | 5 | 0.355 | 0.251 | 0.359 | 0.325 | 0.375 |
| | 15 | 0.311 | 0.233 | 0.341 | 0.303 | 0.389 |
| Dosis 250 mg/Kg | 5 | 0.24 | 0.274 | 0.38 | 0.225 | 0.216 |
| | 15 | 0.238 | 0.259 | 0.334 | 0.23 | 0.214 |
| Dosis 500 mg/Kg | 5 | 0.225 | 0.243 | 0.265 | 0.227 | 0.204 |
| | 15 | 0.213 | 0.22 | 0.238 | 0.215 | 0.187 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Lampiran 3.6 Hasil Perhitungan Konstanta Fagositosis

| Kelompok | Waktu | Konstanta Fagositosis (K) | | | | | Rata-rata | ±SD |
|------------------------|-------|---------------------------|--------|--------|--------|--------|-----------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| CMCNa 1% | 5 | 0.088 | 0.089 | 0.083 | 0.076 | 0.077 | 0.0826 | 0.00602 |
| | 15 | 0.03 | 0.029 | 0.029 | 0.027 | 0.028 | 0.0286 | 0.00114 |
| | X | 0.059 | 0.059 | 0.056 | 0.0515 | 0.0525 | 0.0556 | 0.00352 |
| Stimuno 6,5 mg/kgBB | 5 | 0.102 | 0.119 | 0.09 | 0.084 | 0.094 | 0.0978 | 0.01354 |
| | 15 | 0.031 | 0.044 | 0.037 | 0.03 | 0.031 | 0.0346 | 0.00594 |
| | X | 0.0665 | 0.0815 | 0.0635 | 0.057 | 0.0625 | 0.0662 | 0.00922 |
| Dosis 125mg/kgBB | 5 | 0.09 | 0.12 | 0.089 | 0.098 | 0.085 | 0.0964 | 0.01401 |
| | 15 | 0.034 | 0.042 | 0.031 | 0.035 | 0.027 | 0.0338 | 0.00554 |
| | X | 0.062 | 0.081 | 0.06 | 0.0665 | 0.056 | 0.0651 | 0.00966 |
| Dosis 250mg/kgBB | 5 | 0.124 | 0.112 | 0.084 | 0.13 | 0.133 | 0.1166 | 0.01992 |
| | 15 | 0.042 | 0.039 | 0.032 | 0.043 | 0.045 | 0.0402 | 0.00507 |
| | X | 0.083 | 0.0755 | 0.058 | 0.0865 | 0.089 | 0.0784 | 0.01249 |
| Dosis 500 mg/kgBB | 5 | 0.13 | 0.123 | 0.115 | 0.129 | 0.138 | 0.127 | 0.00857 |
| | 15 | 0.045 | 0.044 | 0.042 | 0.045 | 0.049 | 0.045 | 0.00255 |
| | X | 0.0875 | 0.0835 | 0.0785 | 0.087 | 0.0935 | 0.086 | 0.00552 |

Contoh perhitungan Konstanta Fagositosis:

$$\begin{aligned}
 K_5 &= \frac{\text{Log } A(n) - \text{Log } A(n-1)}{t(n-1) - t(n)} \\
 &= \frac{\text{Log } 0,362(1) - \text{Log } 0,362(1-1)}{5(1-1) - 5(1)} \\
 &= 0,088
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 K_{15} &= \frac{\text{Log } A(n) - \text{Log } A(n-1)}{t(n-1) - t(n)} \\
 &= \frac{\text{Log } 0,359(2) - \text{Log } 0,359(2-1)}{15(2-1) - 15(2)} \\
 &= 0,030
 \end{aligned}$$

Keterangan:

- K = Konstanta fagositosis
- A = Absorbansi
- t = Waktu (5 dan 15 menit)
- n = Periode pengambilan (1, 2)

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Lampiran 3.7 Hasil Analisis Statistik Konstanta Fagositosis menggunakan *One-way ANOVA* dan dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc Tukey*

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----------------------|---------------------------------|------|------|-------------------|------|---|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | |
| Konstanta Fagositosis | CMCNa 1% | .236 | 5 | .200 [*] | .870 | 5 |
| | Stimuno | .283 | 5 | .200 [*] | .885 | 5 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | .230 | 5 | .200 [*] | .894 | 5 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | .237 | 5 | .200 [*] | .860 | 5 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | .186 | 5 | .200 [*] | .987 | 5 |

Tests of Normality

| Kelompok | Shapiro-Wilk ^a | |
|-----------------------|---------------------------|------|
| | Sig. | |
| Konstanta Fagositosis | CMCNa 1% | .265 |
| | Stimuno | .333 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

| | |
|-------------------|------|
| Dosis 125 mg/kgBB | .378 |
| Dosis 250 mg/kgBB | .227 |
| Dosis 500 mg/kgBB | .966 |

Oneway

Descriptives

Konstanta Fagositosis

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | |
|----------------------|---|--------|-------------------|---------------|-------------------------------------|----------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| CMCNa 1% | 5 | .05580 | .003271 | .001463 | .05174 | .05986 |
| Stimuno | 5 | .06660 | .009343 | .004179 | .05500 | .07820 |
| Dosis 125 mg/kgBB | 5 | .06520 | .009680 | .004329 | .05318 | .07722 |
| Dosis 250 mg/kgBB | 5 | .07860 | .012542 | .005609 | .06303 | .09417 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

| | | | | | | |
|----------------------|----|--------|---------|---------|--------|--------|
| Dosis 500 mg/kgBB | 5 | .08640 | .005505 | .002462 | .07957 | .09323 |
| Total | 25 | .07052 | .013550 | .002710 | .06493 | .07611 |

Descriptives

Konstanta Fagositosis

| | Minimum | Maximum |
|-------------------|---------|---------|
| CMCNa 1% | .052 | .059 |
| Stimuno | .057 | .082 |
| Dosis 125 mg/kgBB | .056 | .081 |
| Dosis 250 mg/kgBB | .058 | .089 |
| Dosis 500 mg/kgBB | .079 | .094 |
| Total | .052 | .094 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Test of Homogeneity of Variances

Konstanta Fagositosis

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1.300 | 4 | 20 | .304 |

ANOVA

Konstanta Fagositosis

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | .003 | 4 | .001 | 9.521 | .000 |
| Within Groups | .002 | 20 | .000 | | |
| Total | .004 | 24 | | | |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Konstanta Fagositosis

Tukey HSD

| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|-------------------|-------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| CMCNa 1% | Stimuno | -.010800 | .005509 | .320 | -.02728 | .00568 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | -.009400 | .005509 | .452 | -.02588 | .00708 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | -.022800* | .005509 | .004 | -.03928 | -.00632 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -.030600* | .005509 | .000 | -.04708 | -.01412 |
| Stimuno | CMCNa 1% | .010800 | .005509 | .320 | -.00568 | .02728 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | .001400 | .005509 | .999 | -.01508 | .01788 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | -.012000 | .005509 | .228 | -.02848 | .00448 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -.019800* | .005509 | .014 | -.03628 | -.00332 |
| Dosis 125 mg/kgBB | CMCNa 1% | .009400 | .005509 | .452 | -.00708 | .02588 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

| | | | | | | |
|-------------------|-------------------|-----------|---------|------|---------|---------|
| | Stimuno | -.001400 | .005509 | .999 | -.01788 | .01508 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | -.013400 | .005509 | .147 | -.02988 | .00308 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -.021200* | .005509 | .008 | -.03768 | -.00472 |
| Dosis 250 mg/kgBB | CMCNa 1% | .022800* | .005509 | .004 | .00632 | .03928 |
| | Stimuno | .012000 | .005509 | .228 | -.00448 | .02848 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | .013400 | .005509 | .147 | -.00308 | .02988 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -.007800 | .005509 | .625 | -.02428 | .00868 |
| Dosis 500 mg/kgBB | CMCNa 1% | .030600* | .005509 | .000 | .01412 | .04708 |
| | Stimuno | .019800* | .005509 | .014 | .00332 | .03628 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | .021200* | .005509 | .008 | .00472 | .03768 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | .007800 | .005509 | .625 | -.00868 | .02428 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Konstanta Fagositosis

Tukey HSD^a

| Kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|-------------------|---|-------------------------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| CMCNa 1% | 5 | .05580 | | |
| Dosis 125 mg/kgBB | 5 | .06520 | .06520 | |
| Stimuno | 5 | .06660 | .06660 | |
| Dosis 250 mg/kgBB | 5 | | .07860 | .07860 |
| Dosis 500 mg/kgBB | 5 | | | .08640 |
| Sig. | | .320 | .147 | .625 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Lampiran 3.8 Hasil Perhitungan Indeks Fagositosis

| Kelompok | Waktu | Indeks Fagositosis (K) | | | | | Rata-rata | ±SD |
|---------------------|-------|------------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| CMCNa 1% | 5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | 15 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | X | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Stimuno 6,5 mg/kgBB | 5 | 1.15909 | 1.33708 | 1.08434 | 1.10526 | 1.22078 | 1.18131 | 0.10186052 |
| | 15 | 1.03333 | 1.51724 | 1.27586 | 1.11111 | 1.10714 | 1.20894 | 0.19384327 |
| | X | 1.09621 | 1.42716 | 1.1801 | 1.10819 | 1.16396 | 1.19512 | 0.13451765 |
| Dosis 125mg/kgBB | 5 | 1.02273 | 1.34831 | 1.07229 | 1.28947 | 1.1039 | 1.16734 | 0.14286246 |
| | 15 | 1.13333 | 1.44828 | 1.06897 | 1.2963 | 0.96429 | 1.18223 | 0.19138263 |
| | X | 1.07803 | 1.3983 | 1.07063 | 1.29289 | 1.0341 | 1.17479 | 0.16117375 |
| Dosis 250mg/kgBB | 5 | 1.40909 | 1.25843 | 1.01205 | 1.71053 | 1.72727 | 1.42347 | 0.3047172 |
| | 15 | 1.4 | 1.34483 | 1.10345 | 1.59259 | 1.60714 | 1.4096 | 0.20647206 |
| | X | 1.40455 | 1.30163 | 1.05775 | 1.65156 | 1.66721 | 1.41654 | 0.25502275 |
| Dosis 500 mg/kgBB | 5 | 1.47727 | 1.38202 | 1.38554 | 1.69737 | 1.79221 | 1.54688 | 0.18767539 |
| | 15 | 1.5 | 1.51724 | 1.44828 | 1.66667 | 1.75 | 1.57644 | 0.12652773 |
| | X | 1.48864 | 1.44963 | 1.41691 | 1.68202 | 1.77111 | 1.56166 | 0.15587594 |

Contoh perhitungan Indeks Fagositosis:

$$\begin{aligned} \text{IF} &= \frac{\text{Konstanta Mencit Z}}{\text{Konstanta Fagositosis Mencit Kontrol Negatif}} \\ &= \frac{0,102}{0,088} = 1,159 \end{aligned}$$

Keterangan:

IF = Indeks fagositosis dari tiap kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Mencit Z = Mencit yang telah diperlakukan dan ditentukan harga konstanta fagositosis



DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Lampiran 3.9 Hasil Analisis Statistik Indeks Fagositosis menggunakan *One-way ANOVA* dan dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc Tukey*

Tests of Normality^a

| Kelompok | | Kolmogorov-Smirnov ^b | | | Shapiro-Wilk | |
|--------------------|-------------------|---------------------------------|----|-------------------|--------------|----|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df |
| Indeks Fagositosis | Stimuno | .344 | 5 | .053 | .778 | 5 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | .326 | 5 | .088 | .842 | 5 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | .222 | 5 | .200 [*] | .921 | 5 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | .280 | 5 | .200 [*] | .875 | 5 |

Tests of Normality^a

| Kelompok | | Shapiro-Wilk ^b |
|--------------------|-------------------|---------------------------|
| | | Sig. |
| Indeks Fagositosis | Stimuno | .063 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | .169 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

| | |
|-------------------|------|
| Dosis 250 mg/kgBB | .534 |
| Dosis 500 mg/kgBB | .287 |

Oneway

Descriptives

Indeks Fagositosis

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | |
|----------------------|---|---------|-------------------|---------------|-------------------------------------|----------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| CMCNa 1% | 5 | 1.00000 | .000000 | .000000 | 1.00000 | 1.00000 |
| Stimuno | 5 | 1.19500 | .134518 | .060158 | 1.02797 | 1.36203 |
| Dosis 125 mg/kgBB | 5 | 1.17480 | .161058 | .072027 | .97482 | 1.37478 |
| Dosis 250 mg/kgBB | 5 | 1.41680 | .254939 | .114012 | 1.10025 | 1.73335 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

| | | | | | | |
|-------------------|----|---------|---------|---------|---------|---------|
| Dosis 500 mg/kgBB | 5 | 1.56180 | .155707 | .069634 | 1.36846 | 1.75514 |
| Total | 25 | 1.26968 | .250376 | .050075 | 1.16633 | 1.37303 |

Descriptives

Indeks Fagositosis

| | Minimum | Maximum |
|-------------------|---------|---------|
| CMCNa 1% | 1.000 | 1.000 |
| Stimuno | 1.096 | 1.427 |
| Dosis 125 mg/kgBB | 1.034 | 1.398 |
| Dosis 250 mg/kgBB | 1.058 | 1.667 |
| Dosis 500 mg/kgBB | 1.417 | 1.771 |
| Total | 1.000 | 1.771 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Test of Homogeneity of Variances

Indeks Fagositosis

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2.450 | 4 | 20 | .102 |

ANOVA

Indeks Fagositosis

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | .971 | 4 | .243 | 9.111 | .000 |
| Within Groups | .533 | 20 | .027 | | |
| Total | 1.505 | 24 | | | |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Indeks Fagositosis

Tukey HSD

| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|-------------------|-------------------|-----------------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| CMCNa 1% | Stimuno | -.195000 | .103256 | .355 | -.50398 | .11398 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | -.174800 | .103256 | .460 | -.48378 | .13418 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | -.416800 [*] | .103256 | .005 | -.72578 | -.10782 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -.561800 [*] | .103256 | .000 | -.87078 | -.25282 |
| Stimuno | CMCNa 1% | .195000 | .103256 | .355 | -.11398 | .50398 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | .020200 | .103256 | 1.000 | -.28878 | .32918 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | -.221800 | .103256 | .239 | -.53078 | .08718 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -.366800 [*] | .103256 | .015 | -.67578 | -.05782 |
| Dosis 125 mg/kgBB | CMCNa 1% | .174800 | .103256 | .460 | -.13418 | .48378 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

| | | | | | | |
|-------------------|-------------------|-----------|---------|-------|---------|---------|
| | Stimuno | -.020200 | .103256 | 1.000 | -.32918 | .28878 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | -.242000 | .103256 | .172 | -.55098 | .06698 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -.387000* | .103256 | .010 | -.69598 | -.07802 |
| Dosis 250 mg/kgBB | CMCNa 1% | .416800* | .103256 | .005 | .10782 | .72578 |
| | Stimuno | .221800 | .103256 | .239 | -.08718 | .53078 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | .242000 | .103256 | .172 | -.06698 | .55098 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -.145000 | .103256 | .632 | -.45398 | .16398 |
| Dosis 500 mg/kgBB | CMCNa 1% | .561800* | .103256 | .000 | .25282 | .87078 |
| | Stimuno | .366800* | .103256 | .015 | .05782 | .67578 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | .387000* | .103256 | .010 | .07802 | .69598 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | .145000 | .103256 | .632 | -.16398 | .45398 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Indeks Fagositosis

Tukey HSD^a

| Kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|-------------------|---|-------------------------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| CMCNa 1% | 5 | 1.00000 | | |
| Dosis 125 mg/kgBB | 5 | 1.17480 | 1.17480 | |
| Stimuno | 5 | 1.19500 | 1.19500 | |
| Dosis 250 mg/kgBB | 5 | | 1.41680 | 1.41680 |
| Dosis 500 mg/kgBB | 5 | | | 1.56180 |
| Sig. | | .355 | .172 | .632 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 3.10 Hasil Perhitungan Jumlah dan Jenis Leukosit

| Kelompok | No | Jumlah jenis sel leukosit | | |
|--|----|---------------------------|---------|-----------|
| | | Limfosit | Monosit | Neutrofil |
| Kontrol Negatif | 1 | 51 | 10 | 23 |
| | 2 | 53 | 11 | 16 |
| | 3 | 47 | 10 | 24 |
| | 4 | 56 | 9 | 20 |
| | 5 | 57 | 8 | 25 |
| | X± | 52,8 | 9,6 | 21,6 |
| | SD | 4,025 | 1,140 | 3,647 |
| Kontrol Postif (Stimuno 6,5 mg/kgBB) | 1 | 60 | 12 | 23 |
| | 2 | 60 | 16 | 33 |
| | 3 | 50 | 9 | 28 |
| | 4 | 62 | 10 | 37 |
| | 5 | 71 | 13 | 34 |
| | X± | 60,6 | 12 | 31 |
| | SD | 7,470 | 2,739 | 5,523 |
| Dosis 125 mg/Kg | 1 | 48 | 13 | 30 |
| | 2 | 50 | 15 | 25 |
| | 3 | 62 | 10 | 31 |
| | 4 | 63 | 9 | 27 |
| | 5 | 58 | 12 | 35 |
| | X± | 56,2 | 11,8 | 29,6 |
| | SD | 6,870 | 2,387 | 3,847 |
| Dosis 250 mg/Kg | 1 | 59 | 8 | 25 |
| | 2 | 66 | 15 | 38 |
| | 3 | 65 | 17 | 33 |

| | | | | |
|--------------------|----|-------|-------|-------|
| | 4 | 60 | 13 | 30 |
| | 5 | 70 | 10 | 35 |
| | X± | 64 | 12,6 | 32,2 |
| | SD | 4,528 | 3,647 | 4,970 |
| Dosis 500 mg/Kg | 1 | 65 | 25 | 40 |
| | 2 | 67 | 23 | 33 |
| | 3 | 73 | 19 | 36 |
| | 4 | 64 | 13 | 35 |
| | 5 | 73 | 17 | 31 |
| | X± | 68,4 | 19,4 | 35 |
| | SD | 4,336 | 4,775 | 3,391 |



DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Lampiran 3.11 Hasil Analisis Statistik Jumlah Sel Limfosit menggunakan *One-way ANOVA* dan dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc Tukey*

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | |
|--------------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df |
| Jumlah Limfosit CMCNa 1% | .187 | 5 | .200 | .952 | 5 |
| Stimuno | .268 | 5 | .200 | .934 | 5 |
| Dosis 125 mg/kgBB | .217 | 5 | .200 | .877 | 5 |
| Dosis 250 mg/kgBB | .212 | 5 | .200 | .936 | 5 |
| Dosis 500 mg/kgBB | .256 | 5 | .200 | .833 | 5 |

Tests of Normality

| Kelompok | Shapiro-Wilk ^a |
|--------------------------|---------------------------|
| | Sig. |
| Jumlah Limfosit CMCNa 1% | .750 |
| Stimuno | .625 |
| Dosis 125 mg/kgBB | .295 |
| Dosis 250 mg/kgBB | .635 |
| Dosis 500 mg/kgBB | .145 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Descriptives

Jumlah Limfosit

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | |
|-------------------|----|-------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| CMCNa 1% | 5 | 52.80 | 4.025 | 1.800 | 47.80 | 57.80 |
| Stimuno | 5 | 60.60 | 7.470 | 3.341 | 51.32 | 69.88 |
| Dosis 125 mg/kgBB | 5 | 56.20 | 6.870 | 3.072 | 47.67 | 64.73 |
| Dosis 250 mg/kgBB | 5 | 64.00 | 4.528 | 2.025 | 58.38 | 69.62 |
| Dosis 500 mg/kgBB | 5 | 68.40 | 4.336 | 1.939 | 63.02 | 73.78 |
| Total | 25 | 60.40 | 7.627 | 1.525 | 57.25 | 63.55 |

Descriptives

Jumlah Limfosit

| | Minimum | Maximum |
|----------|---------|---------|
| CMCNa 1% | 47 | 57 |
| Stimuno | 50 | 71 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

| | | |
|-------------------|----|----|
| Dosis 125 mg/kgBB | 48 | 63 |
| Dosis 250 mg/kgBB | 59 | 70 |
| Dosis 500 mg/kgBB | 64 | 73 |
| Total | 47 | 73 |

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Limfosit

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| .656 | 4 | 20 | .629 |

ANOVA

Jumlah Limfosit

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 762.000 | 4 | 190.500 | 6.009 | .002 |
| Within Groups | 634.000 | 20 | 31.700 | | |
| Total | 1396.000 | 24 | | | |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Limfosit

Tukey HSD

| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|-------------------|-------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| CMCNa 1% | Stimuno | -7.800 | 3.561 | .223 | -18.46 | 2.86 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | -3.400 | 3.561 | .872 | -14.06 | 7.26 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | -11.200* | 3.561 | .036 | -21.86 | -.54 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -15.600* | 3.561 | .002 | -26.26 | -4.94 |
| Stimuno | CMCNa 1% | 7.800 | 3.561 | .223 | -2.86 | 18.46 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | 4.400 | 3.561 | .731 | -6.26 | 15.06 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | -3.400 | 3.561 | .872 | -14.06 | 7.26 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -7.800 | 3.561 | .223 | -18.46 | 2.86 |
| Dosis 125 mg/kgBB | CMCNa 1% | 3.400 | 3.561 | .872 | -7.26 | 14.06 |
| | Stimuno | -4.400 | 3.561 | .731 | -15.06 | 6.26 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

| | | | | | | |
|-------------------|-------------------|----------|-------|------|--------|-------|
| | Dosis 250 mg/kgBB | -7.800 | 3.561 | .223 | -18.46 | 2.86 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -12.200* | 3.561 | .020 | -22.86 | -1.54 |
| Dosis 250 mg/kgBB | CMCNa 1% | 11.200* | 3.561 | .036 | .54 | 21.86 |
| | Stimuno | 3.400 | 3.561 | .872 | -7.26 | 14.06 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | 7.800 | 3.561 | .223 | -2.86 | 18.46 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -4.400 | 3.561 | .731 | -15.06 | 6.26 |
| Dosis 500 mg/kgBB | CMCNa 1% | 15.600* | 3.561 | .002 | 4.94 | 26.26 |
| | Stimuno | 7.800 | 3.561 | .223 | -2.86 | 18.46 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | 12.200* | 3.561 | .020 | 1.54 | 22.86 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | 4.400 | 3.561 | .731 | -6.26 | 15.06 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Jumlah Limfosit

Tukey HSD^a

| Kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|-------------------|---|-------------------------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| CMCNa 1% | 5 | 52.80 | | |
| Dosis 125 mg/kgBB | 5 | 56.20 | 56.20 | |
| Stimuno | 5 | 60.60 | 60.60 | 60.60 |
| Dosis 250 mg/kgBB | 5 | | 64.00 | 64.00 |
| Dosis 500 mg/kgBB | 5 | | | 68.40 |
| Sig. | | .223 | .223 | .223 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Lampiran 3.12 Hasil Analisis Statistik Jumlah Sel Monosit menggunakan *One-way ANOVA* dan dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc Tukey*

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | |
|-------------------------|---------------------------------|----|-------------------|--------------|----|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df |
| Jumlah Monosit CMCNa 1% | .237 | 5 | .200 [*] | .961 | 5 |
| Stimuno | .167 | 5 | .200 [*] | .964 | 5 |
| Dosis 125 mg/kgBB | .175 | 5 | .200 [*] | .974 | 5 |
| Dosis 250 mg/kgBB | .162 | 5 | .200 [*] | .971 | 5 |
| Dosis 500 mg/kgBB | .175 | 5 | .200 [*] | .974 | 5 |

Tests of Normality

| Kelompok | Shapiro-Wilk ^a | |
|-------------------------|---------------------------|------|
| | Statistic | Sig. |
| Jumlah Monosit CMCNa 1% | .961 | .814 |
| Stimuno | .964 | .833 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

| | |
|-------------------|------|
| Dosis 125 mg/kgBB | .899 |
| Dosis 250 mg/kgBB | .884 |
| Dosis 500 mg/kgBB | .899 |

One Way Anova

Descriptives

Jumlah Monosit

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | |
|----------------------|---|-------|-------------------|---------------|-------------------------------------|----------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| CMCNa 1% | 5 | 9.60 | 1.140 | .510 | 8.18 | 11.02 |
| Stimuno | 5 | 12.00 | 2.739 | 1.225 | 8.60 | 15.40 |
| Dosis 125 mg/kgBB | 5 | 11.80 | 2.387 | 1.068 | 8.84 | 14.76 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

| | | | | | | |
|-------------------|----|-------|-------|-------|-------|-------|
| Dosis 250 mg/kgBB | 5 | 12.60 | 3.647 | 1.631 | 8.07 | 17.13 |
| Dosis 500 mg/kgBB | 5 | 19.40 | 4.775 | 2.135 | 13.47 | 25.33 |
| Total | 25 | 13.08 | 4.462 | .892 | 11.24 | 14.92 |

Descriptives

Jumlah Monosit

| | Minimum | Maximum |
|-------------------|---------|---------|
| CMCNa 1% | 8 | 11 |
| Stimuno | 9 | 16 |
| Dosis 125 mg/kgBB | 9 | 15 |
| Dosis 250 mg/kgBB | 8 | 17 |
| Dosis 500 mg/kgBB | 13 | 25 |
| Total | 8 | 25 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Monosit

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2.170 | 4 | 20 | .110 |

ANOVA

Jumlah Monosit

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 275.440 | 4 | 68.860 | 6.804 | .001 |
| Within Groups | 202.400 | 20 | 10.120 | | |
| Total | 477.840 | 24 | | | |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Monosit

Tukey HSD

| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I- J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|-------------------|-------------------|------------------------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| CMCNa 1% | Stimuno | -2.400 | 2.012 | .755 | -8.42 | 3.62 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | -2.200 | 2.012 | .808 | -8.22 | 3.82 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | -3.000 | 2.012 | .580 | -9.02 | 3.02 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -9.800* | 2.012 | .001 | -15.82 | -3.78 |
| Stimuno | CMCNa 1% | 2.400 | 2.012 | .755 | -3.62 | 8.42 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | .200 | 2.012 | 1.000 | -5.82 | 6.22 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | -.600 | 2.012 | .998 | -6.62 | 5.42 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -7.400* | 2.012 | .012 | -13.42 | -1.38 |
| Dosis 125 mg/kgBB | CMCNa 1% | 2.200 | 2.012 | .808 | -3.82 | 8.22 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

| | | | | | | |
|-------------------|-------------------|---------|-------|-------|--------|-------|
| | Stimuno | -200 | 2.012 | 1.000 | -6.22 | 5.82 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | -800 | 2.012 | .994 | -6.82 | 5.22 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -7.600* | 2.012 | .009 | -13.62 | -1.58 |
| Dosis 250 mg/kgBB | CMCNa 1% | 3.000 | 2.012 | .580 | -3.02 | 9.02 |
| | Stimuno | .600 | 2.012 | .998 | -5.42 | 6.62 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | .800 | 2.012 | .994 | -5.22 | 6.82 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -6.800* | 2.012 | .022 | -12.82 | -.78 |
| Dosis 500 mg/kgBB | CMCNa 1% | 9.800* | 2.012 | .001 | 3.78 | 15.82 |
| | Stimuno | 7.400* | 2.012 | .012 | 1.38 | 13.42 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | 7.600* | 2.012 | .009 | 1.58 | 13.62 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | 6.800* | 2.012 | .022 | .78 | 12.82 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Jumlah Monosit

Tukey HSD^a

| Kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | |
|-------------------|---|-------------------------|-------|
| | | 1 | 2 |
| CMCNa 1% | 5 | 9.60 | |
| Dosis 125 mg/kgBB | 5 | 11.80 | |
| Stimuno | 5 | 12.00 | |
| Dosis 250 mg/kgBB | 5 | 12.60 | |
| Dosis 500 mg/kgBB | 5 | | 19.40 |
| Sig. | | .580 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Lampiran 3.13 Hasil Analisis Statistik Jumlah Sel Neutrofil menggunakan *One-way ANOVA* dan dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc Tukey*

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | |
|---------------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df |
| Jumlah Neutrofil CMCNa 1% | .249 | 5 | .200* | .907 | 5 |
| Stimuno | .241 | 5 | .200* | .948 | 5 |
| Dosis 125 mg/kgBB | .158 | 5 | .200* | .979 | 5 |
| Dosis 250 mg/kgBB | .164 | 5 | .200* | .981 | 5 |
| Dosis 500 mg/kgBB | .184 | 5 | .200* | .978 | 5 |

Tests of Normality

| Kelompok | Shapiro-Wilk ^a | |
|---------------------------|---------------------------|------|
| | Statistic | Sig. |
| Jumlah Neutrofil CMCNa 1% | .907 | .451 |
| Stimuno | .948 | .721 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

| | |
|-------------------|------|
| Dosis 125 mg/kgBB | .928 |
| Dosis 250 mg/kgBB | .942 |
| Dosis 500 mg/kgBB | .921 |

Descriptives

Jumlah Neutrofil

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | |
|-------------------|---|-------|-------------------|---------------|-------------------------------------|----------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| CMCNa 1% | 5 | 21.60 | 3.647 | 1.631 | 17.07 | 26.13 |
| Stimuno | 5 | 31.00 | 5.523 | 2.470 | 24.14 | 37.86 |
| Dosis 125 mg/kgBB | 5 | 29.60 | 3.847 | 1.720 | 24.82 | 34.38 |
| Dosis 250 mg/kgBB | 5 | 32.20 | 4.970 | 2.223 | 26.03 | 38.37 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

| | | | | | | |
|-------------------|----|-------|-------|-------|-------|-------|
| Dosis 500 mg/kgBB | 5 | 35.00 | 3.391 | 1.517 | 30.79 | 39.21 |
| Total | 25 | 29.88 | 6.078 | 1.216 | 27.37 | 32.39 |

Descriptives

Jumlah Neutrofil

| | Minimum | Maximum |
|-------------------|---------|---------|
| CMCNa 1% | 16 | 25 |
| Stimuno | 23 | 37 |
| Dosis 125 mg/kgBB | 25 | 35 |
| Dosis 250 mg/kgBB | 25 | 38 |
| Dosis 500 mg/kgBB | 31 | 40 |
| Total | 16 | 40 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Neutrofil

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| .645 | 4 | 20 | .637 |

ANOVA

Jumlah Neutrofil

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 507.440 | 4 | 126.860 | 6.691 | .001 |
| Within Groups | 379.200 | 20 | 18.960 | | |
| Total | 886.640 | 24 | | | |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Neutrofil

Tukey HSD

| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I- J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|-------------------|-------------------|------------------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| CMCNa 1% | Stimuno | -9.400* | 2.754 | .021 | -17.64 | -1.16 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | -8.000 | 2.754 | .060 | -16.24 | .24 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | -10.600* | 2.754 | .008 | -18.84 | -2.36 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -13.400* | 2.754 | .001 | -21.64 | -5.16 |
| Stimuno | CMCNa 1% | 9.400* | 2.754 | .021 | 1.16 | 17.64 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | 1.400 | 2.754 | .986 | -6.84 | 9.64 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | -1.200 | 2.754 | .992 | -9.44 | 7.04 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -4.000 | 2.754 | .603 | -12.24 | 4.24 |
| Dosis 125 mg/kgBB | CMCNa 1% | 8.000 | 2.754 | .060 | -.24 | 16.24 |

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

| | | | | | | |
|-------------------|-------------------|---------|-------|------|--------|-------|
| | Stimuno | -1.400 | 2.754 | .986 | -9.64 | 6.84 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | -2.600 | 2.754 | .876 | -10.84 | 5.64 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -5.400 | 2.754 | .320 | -13.64 | 2.84 |
| Dosis 250 mg/kgBB | CMCNa 1% | 10.600* | 2.754 | .008 | 2.36 | 18.84 |
| | Stimuno | 1.200 | 2.754 | .992 | -7.04 | 9.44 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | 2.600 | 2.754 | .876 | -5.64 | 10.84 |
| | Dosis 500 mg/kgBB | -2.800 | 2.754 | .845 | -11.04 | 5.44 |
| Dosis 500 mg/kgBB | CMCNa 1% | 13.400* | 2.754 | .001 | 5.16 | 21.64 |
| | Stimuno | 4.000 | 2.754 | .603 | -4.24 | 12.24 |
| | Dosis 125 mg/kgBB | 5.400 | 2.754 | .320 | -2.84 | 13.64 |
| | Dosis 250 mg/kgBB | 2.800 | 2.754 | .845 | -5.44 | 11.04 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

DIGITAL REPOSITORY UNIVERSITAS JEMBER

Homogeneous Subsets

Jumlah Neutrofil

Tukey HSD^a

| Kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | |
|-------------------|---|-------------------------|-------|
| | | 1 | 2 |
| CMCNa 1% | 5 | 21.60 | |
| Dosis 125 mg/kgBB | 5 | 29.60 | 29.60 |
| Stimuno | 5 | | 31.00 |
| Dosis 250 mg/kgBB | 5 | | 32.20 |
| Dosis 500 mg/kgBB | 5 | | 35.00 |
| Sig. | | .060 | .320 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.