

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK GETAH GAMBIR (*Uncaria gambir* Roxb.)
SEBAGAI IMUNOMODULATOR PADA MENCIT (*Mus musculus*)
BETINA YANG DIINDUKSI SODIUM BENZOAT**

SKRIPSI



**UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A**

Disusun Oleh:

**REYNALDI CANDRO PERMANA
NIM: H91219055**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL
SURABAYA
2023**

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Reynaldi Candro Permana

NIM : H91219055

Program studi : Biologi

Angkatan : 2019

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penelitian skripsi saya yang berjudul “UJI AKTIVITAS EKSTRAK GETAH GAMBIR (*Uncaria gambir* Roxb.) SEBAGAI IMUNOMODULATOR PADA MENCIT (*Mus musculus*) BETINA YANG DIINDUKSI SODIUM BENZOAT”. Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan Tindakan plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi yang ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 26 Juni 2023



Reynaldi Candro Permana

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi

Uji Aktivitas Ekstrak Getah Gambir (*Uncaria Gambir* Roxb.)
sebagai Imunomodulator pada Mencit (*Mus musculus*)
Betina yang Diinduksi Sodium Benzoat

Diajukan Oleh:
Reynaldi Candro Permana
NIM: H91219055

Telah diperiksa dan disetujui
di Surabaya, 26 Juni 2023

Dosen Pembimbing Utama



Eva Agustina, M.Si.

NIP. 198908302014032008

Dosen Pembimbing Pendamping



Risa Purnamasari, M.Si.

NIP. 201409002

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi Reynaldi Candro Permana ini telah dipertahankan
di depan penguji skripsi
di Surabaya, 03 Juli 2023

Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I



Eva Agustina, M.Si.

NIP. 198908302014032008

Penguji II



Risa Purnamasari, M.Si.

NIP. 201409002

Penguji III



Saiful Bahri, M.Si.

NIP. 198804202018011002

Penguji IV



Atiqoh Zummah, M.Sc.

NIP. 199111112019032026

Mengetahui,

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Ampel Surabaya



Saiful Hamdani, M.Pd.

NIP. 196507312000031002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Reynaldi Candro Permana
NIM : H91219055
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
E-mail address : xrey.per.candro@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Skripsi Tesis Desertasi Lain-lain (.....)
yang berjudul :

UJI AKTIVITAS EKSTRAK GETAH GAMBIR(*Uncaria gambir* Roxb.) SEBAGAI
IMUNOMODULATOR PADA MENCIT (*Mus musculus*) BETINA YANG DIINDUKSI
SODIUM BENZOAT

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 20 Juli 2023

Penulis

(Reynaldi Candro Permana)

ABSTRAK

Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kesehatan adalah makanan. Kebutuhan pangan yang terus meningkat mendorong inovasi industri, salah satunya dengan penambahan zat pengawet sodium benzoat. Penambahan pengawet sodium benzoat memberikan banyak kelebihan dalam proses produksi, tetapi disisi lain sodium benzoat dapat menyebabkan immunosupresi, penumpukan radikal bebas, dan masalah kesehatan lainnya jika dikonsumsi berlebihan. Adanya dampak negatif dari sodium benzoat memerlukan adanya penanggulangan, salah satunya dengan penggunaan imunomodulator ekstrak getah gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) sebagai imunomodulator alami untuk menjaga keseimbangan sistem imun. Latar belakang tersebut menjadi dasar penelitian ini yaitu untuk mengetahui perubahan jumlah splenosit mencit setelah pemberian ekstrak getah gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) terhadap mencit yang diinduksi sodium benzoat, serta mengetahui dosis ekstrak getah gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) paling optimal yang dapat meningkatkan jumlah splenosit. Peningkatan jumlah splenosit merupakan salah satu indikator adanya proliferasi sel imun sebagai respon imunitas. Ekstrak getah gambir diujikan pada 24 mencit yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif dengan pemberian sodium benzoat 500mg/kgBB, kontrol positif, kelompok ekstrak gambir 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB. Hasil penelitian membuktikan bahwa pemberian ekstrak getah gambir dapat meningkatkan jumlah splenosit dibandingkan kelompok kontrol negatif dan positif. Dosis 200 mg/kgBB merupakan dosis terbaik dalam meningkatkan jumlah splenosit yaitu 72,6% terhadap kontrol negatif dan 49,7% terhadap kontrol positif.

Kata Kunci: gambir, imunomodulator, sodium benzoat

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

ABSTRACT

One of the factors that can affect health is food. The ever-increasing need for food encourages industrial innovation, one of which is the addition of sodium benzoate as a preservative. The addition of preservative sodium benzoate provides many advantages in the production process, but on the other hand sodium benzoate can cause immunosuppression, legitimize free radicals, and other health problems if consumed in excess. The negative impact of sodium benzoate requires countermeasures, one of which is by using an immunomodulator of gambir sap extract (*Uncaria gambir* Roxb.) as a natural immunomodulator to maintain the balance of the immune system. This background became the basis of this study, namely to determine changes in the number of splenocytes of mice after administration of gambir sap extract (*Uncaria gambir* Roxb.) to mice induced by sodium benzoate, and to determine the optimal dose of gambir sap extract (*Uncaria gambir* Roxb.) splenocytes. An increase in the number of splenocytes is an indicator of the proliferation of immune cells as an immune response. Gambir latex extract was tested at 24 minutes which was divided into 6 treatment groups, namely negative control with 500 mg/kgBB sodium benzoate, positive control, 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, and 200 mg/kgBB gambir extract group. . The results of the study proved that administration of gambier sap extract increased the number of splenocytes compared to the negative and positive control groups. The dose of 200 mg/kgBW was the best dose in increasing the number of splenocytes, namely 72.6% for the negative control and 49.7% for the positive control.

Kata Kunci: gambir, immunomodulator, sodium benzoate

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Lembar Persetujuan.....	ii
Lembar Pengesahan	iii
Pernyataan Keaslian	iv
Lembar Pernyataan Persetujuan Publikasi	v
Motto.....	vi
Halaman Persembahan	vii
Abstrak	viii
Kata Pengantar	x
Daftar Isi.....	xii
Daftar Tabel	xiv
Daftar Gambar.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Manfaat Penelitian	9
1.5 Batasan Penelitian.....	9
BAB II KAJIAN PUSTAKA	11
2.1 Tanaman Gambir	11
2.1.1 Klasifikasi Gambir	11
2.1.2 Morfologi Gambir	13
2.1.3 Kandungan Tanaman Gambir	15
2.1.4 Manfaat Tanaman Gambir	17
2.2 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	19
2.3 Sistem Limfatik.....	21
2.4 Organ <i>Spleen</i>	23
2.4.1 Anatomi <i>Spleen</i>	23
2.4.2 Fisiologi <i>Spleen</i>	24
2.5 Induksi Sodium Benzoat	25
2.6 Imunomodulator.....	26

BAB III METODOLOGI PENELITIAN	28
3.1 Rancangan Penelitian.....	28
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	29
3.3 Alat dan Bahan Penelitian.....	30
3.4 Variabel Penelitian.....	30
3.4.1. Variabel Bebas	30
3.4.2. Variabel Terikat	30
3.4.3. Variabel Kontrol.....	30
3.5 Prosedur Penelitian	31
3.5.1 Determinasi Hewan Uji.....	31
3.5.2 Determinasi Tanaman	31
3.5.3 Ekstraksi Getah Gambir	31
3.5.4 Uji Fitokimia.....	32
3.5.5 Penetapan Dosis Ekstrak Getah Gambir	34
3.5.6 Aklimatisasi Mencit	34
3.5.7 Induksi Sodium Benzoat	35
3.5.8 Pemberian Ekstrak Gambir	35
3.5.9 Pengoleksian Organ <i>Spleen</i>	35
3.5.10 Penghitungan Sel Splenosit.....	36
3.6 Analisis Data.....	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Getah Gambir (<i>Uncaria gambir</i>).....	38
4.2 Pengaruh Ekstrak Getah Gambir (<i>Uncaria gambir</i> Roxb.) terhadap Jumlah Splenosit.....	43
BAB V PENUTUP.....	58
5.1 Kesimpulan	58
5.2 Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN.....	72

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Desain Perlakuan.....	28
Tabel 3.2 Jadwal Penelitian Skala Laboratorium.....	30
Tabel 4.1 Hasil Perhitungan Persen Rendemen Ekstrak Getah gambir.....	39
Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Getah Gambir.....	39
Tabel 4.3 Berat-rata Organ Limpa Mencit.....	55



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Tanaman Gambir	12
Gambar 2.2 Morfologi Daun Gambir.....	14
Gambar 2.3 Struktur Kimia Gambir.....	16
Gambar 2.4 Morfologi Mencit	20
Gambar 2.5 Organ <i>Spleen</i>	22
Gambar 2.6 Struktur Kimia Sodium Benzoat.....	26
Gambar 4.1 Perbedaan Sel Splenosit Hidup dan Mati.....	44
Gambar 4.2 Lteratur Perbedaan Sel Splenosit Hidup dan Mati.....	44
Gambar 4.3 Literatur Sel Splenosit.....	44
Gambar 4.4 Histogram Jumlah Spelnosit Hidup Mencit.....	46
Gambar 4.5 Peran Katekin Sebagai Imunomodulator.....	51
Gambar 4.6 Interaksi Katekin dengan Asam Amino Reseptor Sitokin.....	52
Gambar 4.7 Katekin sebagai Antioksidan.....	53

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan merupakan sesuatu yang penting agar manusia tetap bisa beraktivitas dan produktif sebagaimana mestinya. Kesehatan merupakan hak asasi setiap manusia dan merupakan unsur kesejahteraan untuk menunjang kelangsungan hidup, dimana faktor kesehatan akan sangat berpengaruh terhadap kualitas sumber daya manusia (Sulistiarini dan Hargono, 2016). Berbagai macam faktor dapat mempengaruhi kesehatan, seperti pola hidup yang tidak sehat, stres, kurangnya aktivitas fisik, makanan, lingkungan, dan faktor lainnya (Permana dan Sumaryana, 2018). Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kesehatan bisa datang dari makanan, terlebih makanan merupakan kebutuhan penting dan tidak dapat dipisahkan dari manusia karena merupakan sumber energi agar manusia dapat beraktifitas. Makanan yang sehat akan mengandung zat dan gizi yang baik bagi metabolisme dan kesehatan tubuh, namun tidak menutup kemungkinan zat yang terkandung dalam makanan juga dapat berdampak buruk bagi tubuh itu sendiri (Tahir dkk, 2019). Tidak semua makanan mengandung zat yang baik untuk tubuh, terlebih lagi di zaman modern ini dimana kebutuhan terus meningkat mendorong berbagai kemajuan di berbagai bidang, tidak terkecuali bidang pangan (Alfitasari dkk, 2017).

Kebutuhan pangan manusia yang terus meningkat mendorong berbagai inovasi dan perkembangan terhadap industri pangan, salah satunya berupa penambahan zat aditif seperti penyedap, pewarna ataupun pengawet makanan. Penggunaan bahan tambahan atau zat aditif dalam makanan merupakan salah

satu penemuan untuk menjawab kebutuhan pangan manusia, salah satu zat aditif yang sering digunakan adalah pengawet sintetis. Penggunaan pengawet sintetis memberikan dampak pada produksi makanan yang menjadikan makanan tidak cepat rusak, memperpanjang masa simpan, memperbaiki tekstur, sehingga produksi menjadi lebih praktis dan murah jika dibandingkan pengawetan secara tradisional. Penggunaan pengawet sintetis memang memberikan kelebihan tersendiri namun disisi lain juga menimbulkan dampak negatif terhadap kesehatan jika penggunaannya tidak sesuai prosedur (Buana dan Harahap, 2022). Salah satu pengawet sintetis yang sering digunakan dalam makanan adalah sodium benzoat atau sering disebut natrium benzoat. Pengawet sodium benzoat merupakan gabungan dari asam benzoat dan natrium hidroksida yang umum digunakan dalam produksi makanan sebagai penghambat pertumbuhan bakteri, jamur, maupun mikroba sehingga daya simpan makanan lebih lama (Hilda, 2015).

Penggunaan sodium benzoat sebagai pengawet makanan memang diperbolehkan dan meningkatkan hasil produksi pangan, tetapi disisi lain konsumsi sodium benzoat yang telalu sering dan dalam konsentrasi yang tinggi dapat menyebabkan gangguan pada imun tubuh dan dapat menyebabkan masalah kesehatan (Thafrihani dkk, 2021). Efek samping akibat penggunaan pengawet sodium benzoat tidak berdampak secara langsung, tetapi akan terkumpul dan menumpuk di dalam tubuh (Gibbs dkk, 2016). Penelitian dari Dar dkk (2017), menunjukkan bahwa sodium benzoat dapat menyebabkan kerusakan sistem imun bahkan kanker, sodium benzoat juga diketahui mampu menghambat oksigen pada sel, bertindak sebagai immunosupresan dengan

menurunkan ekspresi sitokin interleukin (IL) seperti IL-4, IL-6, interferon gamma (IFN- γ) dan IL-17 pada splenosit terstimulasi Con A. Menurut penelitian Maier dkk (2010), menunjukkan bahwa sodium benzoat dapat menyebabkan immunosupresi dengan menekan aktivitas sel Th1. Sodium benzoat diketahui menghambat aktifitas dari limfosit B dan T, yakni menghambat proliferasi limfosit T melawan antigen MHC alogenic dan mempengaruhi kadar sitokin, selain itu sodium benzoat juga dapat menyebabkan penurunan ekspresi CD8 limfosit T dan CD19 limfosit B (Nowicka dan Mariola, 2022). Hasil penelitian dari Pizzino dkk (2017), menunjukkan bahwa konsumsi sodium benzoat yang terlalu sering dan dalam jumlah banyak dapat menyebabkan stress oksidatif, yakni keadaan dimana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya. Akibat radikal bebas yang berlebih dalam tubuh dapat menyebabkan intensitas proses oksidasi sel-sel tubuh normal menjadi semakin tinggi dan menimbulkan kerusakan sel bahkan kanker.

Beberapa penelitian mengenai efek samping sodium benzoat menunjukkan bahwa pengawet makanan ini memiliki dampak yang kurang baik terhadap imunitas tubuh, padahal jika imunitas tubuh dalam kondisi menurun akan berdampak pada rentannya seseorang untuk terserang berbagai penyakit. Sistem imun pada makhluk hidup merupakan anugrah dari Tuhan, sebagai pertahanan terhadap zat asing yang masuk kedalam tubuh. Tubuh manusia secara alami memiliki mekanisme pertahanan agar tetap sehat berupa sistem imun, yang menjaga tubuh agar tetap pada kondisi normal (Oktavia dkk, 2021). Kesempurnaan penciptaan manusia dijelaskan dalam surah At-Tin ayat 4, Allah SWT berfirman :

لَقَدْ خَلَقْنَا الْإِنْسَانَ فِي أَحْسَنِ تَقْوِيمٍ

Artinya: *Sungguh, Kami telah menciptakan manusia dalam bentuk yang sebaik-baiknya.*

Firman Allah dalam potongan ayat tersebut mengandung makna tersirat mengenai penciptaan manusia yang sangat sempurna. Dalam tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa ayat tersebut menjadi obyek sumpah, betapa manusia diciptakan oleh Allah SWT dalam bentuk yang sebaik-baiknya, dengan perawakan yang sempurna dan normal beserta semua mekanismenya. Hal ini juga terkait dengan sistem kekebalan tubuh dengan mekanisme yang luar biasa untuk memberikan perlindungan terhadap penyakit. Mekanisme kerja imunitas tubuh manusia menunjukkan betapa besar anugrah dari Allah melihat bagaimana sistem kerja dari sistem imun yang bekerja dengan sendirinya dan bekerja dengan sangat rapi. Hal ini menunjukkan kebesaran Allah karena segala sesuatu berjalan atas izin-Nya, dan Dia lah yang mengatur segalanya. Oleh karena itu, sebagai umat muslim sudah sepatutnya bersyukur atas semua nikmat yang telah Allah berikan, serta selalu menjaga kesehatan sebagai bentuk rasa syukur tersebut (Shofiyah, 2022).

Sistem imun mampu mengenali antigen asing, sehingga ketika antigen yang sifatnya membahayakan masuk kedalam tubuh, akan menimbulkan respon pertahanan baik secara humoral maupun seluler (Marlina dan Retno, 2018). Jika suatu antigen berhasil memasuki tubuh, maka akan mengaktifkan respon imunitas tubuh, yang dapat dikategorikan menjadi 2 macam, yaitu imunitas nonspesifik (*innate immunity*) yang merupakan pertahanan awal tubuh dalam melawan patogen dan imunitas spesifik (*adaptive immunity*) yang terbentuk setelah adanya antigen dan memberikan respon yang spesifik sesuai

karakteristik antigen (Rubiana dkk, 2021). Sistem imun *adaptive* memainkan peran dalam pertahanan terhadap penyakit yang telah dikenali sebelumnya dan menjadikan respon sistem imun ini cenderung lebih lama tetapi mampu memberikan respon yang spesifik juga efektif (Kondororik dkk, 2017). Hal ini menjadikan imunitas tubuh sangat penting untuk diandalkan dalam pertahanan melawan berbagai zat asing yang masuk kedalam tubuh, tidak terkecuali dalam menangkal dampak negatif dari sodium benzoat maupun zat aditif lain dalam makanan.

Sistem imun tubuh berperan penting dalam melawan zat asing yang masuk kedalam tubuh, oleh karenanya menjaga agar imun selalu dalam kondisi prima sangatlah penting. Salah satu cara untuk menjaga agar imun dalam kondisi prima adalah penggunaan imunomodulator (Setiawan, 2015). Imunomodulator merupakan substansi atau obat yang dapat mempengaruhi aktivitas sistem imun baik dengan cara merangsang atau memperbaiki sistem imun (Lawrenti, 2018). Penggunaan imunomodulator penting dilakukan untuk menyeimbangkan dan memperbaiki efek imunosupresan ataupun patogen yang dapat mempengaruhi sistem imun. Indonesia sebagai negara tropis memiliki berbagai macam tanaman yang berkhasiat sebagai obat dan memiliki kandungan yang bersifat sebagai imunomodulator alami, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif terhadap mahalnya obat imunomodulator kimia yang tersedia di pasaran berpaten.

Penggunaan tanaman obat di Indonesia sudah dikenal sejak lama dalam pengobatan tradisional. Terdapat lebih dari 7.000 spesies tanaman obat di Indonesia yang telah diteliti untuk mengatasi masalah kesehatan, dimana salah

satu tanaman yang telah diteliti dan berpotensi sebagai imunomodulator adalah tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) (Frinanda dan Rahayu, 2014). Gambir mengandung berbagai senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, polifenol, katekin, dan senyawa aktif lainnya (Dibisono dkk, 2021). Komponen utama pada gambir terdiri dari katekin (asam katekin), asam katekin tanat (catechin anhydrid), dan kuersetin (Sabarni, 2015). Katekin termasuk kedalam senyawa polifenol dengan kadar tertinggi pada tanaman gambir yakni berkisar 55 - 76% (Hilmi dan Rahayu, 2018). Senyawa polifenol yang terdapat pada gambir memiliki sifat antioksidan yang kuat (Aditya dan Ariyanti, 2016).

Antioksidan berperan dalam melindungi organ tubuh dari serangan radikal bebas yang bisa membantu meningkatkan imunitas tubuh (Siswanto dkk, 2013). Katekin pada gambir juga memiliki efek sebagai antikanker, antioksidan, antiinflamasi, dan sebagai imunomodulator (Devagarani, 2012). Menurut Kurniawati (2016), katekin dan derivatnya memiliki potensi sebagai terapi kanker dan HIV yang dapat menghambat protease dalam metastasis kanker dan infeksi oleh virus. Selain itu, Kuo dkk (2014) melaporkan bahwa katekin mampu meningkatkan sekresi IL-2 dan IFN- γ , serta menurunkan produksi Immunoglobulin E (IgE) spesifik antigen. Penelitian dari Rahayu dkk (2018) juga menunjukkan bahwa katekin dapat berperan sebagai imunostimulan dalam meningkatkan ekspresi IL-17A, IL-8, dan HBD-2. Hal ini mempertegas potensi gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dengan kadar katekinnya yang tinggi dapat berperan sebagai agen yang dapat mempengaruhi sistem imunitas tubuh.

Beberapa penelitian terkait efek imunomodulator ekstrak gambir telah dilakukan, salah satunya adalah penelitian dari Zihadia dkk (2012), dimana

pemberian kombinasi ekstrak katekin gambir dari fase etil asetat gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dan eugenol terhadap tikus dengan menggunakan metode bersihan karbon secara *in vivo* menunjukkan bahwa perbandingan katekin gambir : eugenol (1:2) dengan dosis 100mg/kgBB dan 200 mg/kgBB, merupakan imunomodulator kuat dengan indeks fagositosis lebih dari 1,5. Penelitian mengenai gambir dilakukan oleh Putri (2021) yakni pemberian gambir terpurifikasi dengan dosis 200 mg/kg BB, dan kombinasi gambir terpurifikasi 200 mg/kgBB + propolis 195 mg/kgBB terhadap mencit yang diberi vaksin H5N1 terhadap titer antibodi mencit, menunjukkan hasil bahwa pemberian gambir terpurifikasi 200 mg/kgBB mampu meningkatkan titer antibodi, meningkatkan jumlah leukosit, dan meningkatkan persentase limfosit terhadap mencit.

Uji efek imunomodulator gambir juga dilakukan oleh Nurhidayah (2010), yakni pemberian kombinasi ekstrak katekin dan ekstrak daun sirih terhadap mencit dengan antigen *Staphylococcus epidermidis* terhadap kadar enzim asam fosfatase pada sel makrofag peritonium mencit secara *in vivo*. Hasil terbaik menunjukkan pada dosis 100mg/kgBB dan 200 mg/kgBB dengan aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag terbesar jika dibandingkan kontrol. Penelitian Dewi dan Sabrina (2015) menggunakan katekin gambir sebagai sediaan tablet hisap dengan parameter kadar CD4 dalam darah sebelum dan sesudah pemberian obat menunjukkan adanya kadar sel CD4 yang meningkat bermakna setelah pemberian tablet hisap, hal ini menunjukkan potensi gambir sebagai imunomodulator.

Mengacu pada penelitian sebelumnya mengenai efek imunomodulator ekstrak gambir, pada penelitian digunakan getah gambir sebagai bahan ekstrak dengan parameter yang digunakan adalah jumlah sel splenosit. Getah gambir merupakan hasil olahan dari campuran daun dan ranting tanaman gambir (Marlinda, 2019), sedangkan splenosit merupakan sel dari organ *spleen* yang merupakan organ tempat pematangan dan aktivasi sel-sel imun. Splenosit mengandung beberapa sel imun seperti sel B, sel T, sel Th, maupun sel NK, (Alquraisi dkk, 2021). Induksi sodium benzoat juga dilakukan terhadap mencit sebagai antigen yang dapat merangsang aktivitas sistem imun melalui parameter jumlah sel splenosit. Oleh karena itu penggunaan sodium benzoat sebagai antigen sejalan dengan tujuan penelitian ini yang ingin mengetahui pengaruh ekstrak katekin gambir (*Uncarian gambir* Roxb.) terhadap jumlah sel splenosit untuk mengetahui pengaruhnya terhadap imunitas.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh ekstrak getah gambir (*Uncarian gambir* Roxb.) terhadap jumlah splenosit mencit yang diinduksi sodium benzoat ?
2. Berapakah dosis ekstrak getah gambir (*Uncarian gambir* Roxb.) yang paling optimal dalam meningkatkan splenosit mencit yang diinduksi sodium benzoat?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh ekstrak getah gambir (*Uncarian gambir* Roxb.) terhadap jumlah splenosit mencit yang diinduksi sodium benzoat.

2. Mengetahui dosis ekstrak getah gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) yang paling optimal dalam meningkatkan sel splenosit mencit yang diinduksi sodium benzoat.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan bahwa senyawa metabolit pada tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dapat digunakan sebagai imunomodulator yang dapat meningkatkan jumlah splenosit. Aktivitas imunomodulator dari ekstrak getah gambir dapat menjadi dasar bahwa ekstrak getah gambir memiliki potensi yang besar untuk diadopsi menjadi agen imunomodulator dalam menjaga kesehatan, dapat dijadikan alternatif pengobatan atau sebagai imunomodulator alami yang memiliki efek samping yang lebih minim terhadap tubuh.

1.5 Batasan Penelitian

Pembatasan masalah dalam penelitian bertujuan untuk membatasi pembahasan pada pokok permasalahan, yang bertujuan agar tidak terjadi penyimpangan tujuan penelitian, sehingga mempermudah mendapatkan data serta informasi yang dibutuhkan. Oleh karena itu, penulis menetapkan batasan-batasan penelitian sebagai berikut :

1. Bahan uji dalam penelitian ini adalah gambir (*Uncaria gambir* Roxb.).
2. Indikator uji efek imunomodulator adalah jumlah sel splenosit hidup pada organ spleen mencit.
3. Dosis ekstrak gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) yang digunakan adalah 50, 100, 150, 200 mg/kgBB.

4. Kontrol negatif berupa induksi sodium benzoat 500mg/kgBB pada mencit tanpa pemberian ekstrak gambir.
5. Kontrol positif adalah perlakuan mencit tanpa induksi sodium benzoat maupun pemberian ekstrak gambir.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Gambir

2.1.1 Klasifikasi Gambir

Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) merupakan tanaman perdu asal Asia Tenggara dengan ketinggian dapat mencapai 3 meter (Aditya dan Ariyanti, 2016). Persebaran tanaman gambir di Indonesia meliputi Pulau Sumatra, Riau, Kepulauan Riau, Pulau Kalimantan, Nusa Tenggara, dan Maluku, namun daerah yang memproduksi gambir sebagai komoditasnya masih terbatas di Sumatra Barat (Marlinda, 2018). Persebaran sentra produksi gambir di provinsi Sumatra Barat juga tidaklah merata, dimana produksi utamanya berada di Kabupaten Lima Puluh Kota di Kecamatan Pangkalan, Bukit Barisan, Harau, Kapur IX, dan beberapa kecamatan lainnya. Sentra produksi gambir di Sumatra Barat juga berada di Kabupaten Pesisir Selatan yang berada di kecamatan Batang Kapas, Bayang, Koto XI Tarusan, dan kecamatan Sutera (Winardi, 2011). Produksi gambir juga tersebar di Riau, yang berada di Kecamatan Kampar Kiri, Koto KamparHulu, XIII Koto Kampar, Kampar Kiri Hulu, yang kesemuanya berada di Kabupaten Kampar (Helmi, 2015).

Penyebutan tanaman *Uncaria gambir* berbeda-beda di setiap daerah di Indonesia, di Pulau Sumatra tanaman ini biasa disebut gambe, gimber, gambu, kacu, lain halnya dengan di pulau jawa yang disebut santun dan gambir. Adapun penyebutan *Uncaria gambir* di Kalimantan biasa

disebut gamelo, gambit, gambe, di Nusa Tenggara disebut sebagai gambele, tagambe, sedangkan di Maluku dikenal dengan sebutan kampir, kambir, gaber, gambe, dan lain sebagainya (Marlinda, 2018).

Klasifikasi tanaman gambir sebagai berikut.

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Gentianales

Family : Rubiaceae

Genus : *Uncaria*

Spesies : *Uncaria gambir* Roxb. (Thorper dan Whiteley, 1921).

Gambir memiliki batang yang tergak berwarna coklat agak pucat, serta memiliki percabangan simpodial. Pada tanaman yang sudah tua, lingkaran batang pohon dapat berukuran hingga 36 cm (Sa'id dkk, 2009). Morfologinya ditunjukkan pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Morfologi Tanaman Gambir

Sumber : (Hera dkk, 2016)

Gambir memerlukan cahaya matahari yang merata sepanjang tahun untuk dapat tumbuh, tanaman ini dapat ditemukan pada daerah dengan ketinggian hingga 500m diatas permukaan air laut (Marlinda, 2019).

Selain itu, lingkungan dengan curah hujan yang memadai, kelembaban sekitar 70-85% dan suhu lingkungan 26-28°C turut menjadi pendukung agar tanaman gambir dapat tumbuh dengan baik. Tanaman gambir dapat tumbuh dengan baik di daerah khatulistiwa karena beriklim tropis dengan curah hujan yang cukup, selain itu tanaman ini juga dapat tumbuh pada hampir semua jenis tanah podsolik dengan pH berkisar antara 4,8 hingga 5,5 (Marlinda, 2019).

Pada umumnya tanaman gambir ditanam sebagai tanaman perkebunan atau tanaman budidaya. Dalam budidaya tanaman gambir, biasanya dilakukan dengan semiintensif, yakni dilakukan perawatan berupa pembersihan tanaman dan pemangkasan tetapi jarang dilakukan pemupukan. Tanaman gambir dapat beradaptasi dengan berbagai lingkungan tumbuh dan perubahan cuaca, akan tetapi tanaman ini tidak tahan dengan genangan air. Hujan yang terlalu deras dan berkepanjangan bisa menyebabkan kerusakan tanaman terutama pembusukan akar dan merambat sampai pangkal batang (Udarno dan Setiyono, 2013)..

2.1.2 Morfologi Gambir

Tanaman gambir memiliki daun tunggal yang berbentuk lonjong dan saling berhadapan. Daun gambir memiliki panjang sekitar 8 hingga 13 cm serta lebar sekitar 4 hingga 7 cm, dengan pangkal daun berbentuk bulat, tepi daun yang bergerigi, serta ujung yang meruncing. Selain itu daun gambir memiliki warna hijau pada sisi depan dan belakang untuk daun yang sudah tua, serta berwarna kemerahan untuk daun muda.

Beberapa varietas gambir juga memiliki daun berwarna kemerahan di sisi depan maupun belakang walaupun daun sudah tua (Pitriyah, 2016).

Morfologi daun gambir ditunjukkan pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Morfologi Daun Gambir

Sumber : (Hera dkk, 2016)

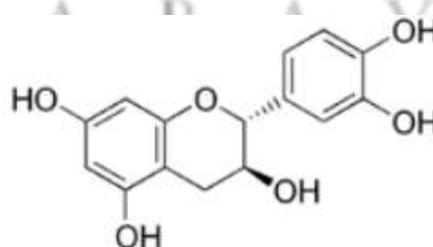
Berdasarkan karakteristik morfologi, tanaman gambir memiliki bunga majemuk berbentuk lonceng dengan panjang sekitar 5cm. Tanaman gambir memiliki mahkota bunga berjumlah 5 helai dengan warna ungu dan memiliki bentuk lonjong (Haryanto, 2009). Bunga pada tanaman gambir memiliki bentuk seperti bola, dan dapat dikategorikan sebagai bunga sempurna berdasarkan kelengkapan organ dasar bunga, seperti *cepal*, *petal*, *stamen*, dan *carpel* (Udarno dan Setiyono, 2013). Bunga gambir terdiri dari bunga jantan dan bunga betina dalam satu rangkaian, dengan bentuk kuncup menyerupai jarum. Gambir memiliki kelopak bunga berjumlah 5 kelopak dengan panjang sekitar 0,8 cm, sedangkan panjang tangkai bunga sekitar 4 cm. Bunga gambir pada awalnya akan muncul dengan diawali bakal bunga pada ketiak daun penumpu yang akan terus berkembang menjadi bunga (Udarno dan Setiyono, 2013).

Tanaman gambir juga memiliki buah dengan bentuk seperti polong dengan ukuran sekitar 3 hingga 7 cm, dimana setiap polong memiliki biji halus yang cukup banyak. Buah gambir memiliki warna hijau muda hingga hijau tua ketika masih muda, namun berubah menjadi kuning kecoklatan hingga coklat kehitaman ketika sudah matang. Ketika buah gambir dalam kondisi terlalu matang, biasanya buah akan pecah dengan sendirinya sehingga bijinya akan keluar (Jamsari dkk., 2007). Pecahnya buah gambir ketika dalam keadaan terlalu masak merupakan salah satu mekanisme penyebaran biji tanaman gambir guna melestarikan spesiesnya. Biji gambir yang ringan juga menjadi faktor pendukung agar penyebaran biji menjadi lebih mudah, bahkan hanya dengan bantuan angin (Kurniawan, 2020).

2.1.3 Kandungan Tanaman Gambir

Gambir mengandung berbagai senyawa bioaktif yang memiliki banyak potensi terhadap kesehatan. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam tanaman gambir salah satunya adalah flavonoid, dimana senyawa flavonoid ini merupakan senyawa bioaktif terbesar yang terkandung pada tanaman gambir. Kandungan flavonoid tanaman gambir berupa katekin sekitar 7 – 33%, asam catechu tannat sekitar 20 – 55%, *pyrocatechol* sekitar 20 – 30%, dan kuersetin sekitar 2 – 3 %, asam lemak, minyak, dan abu (Frinanda dkk, 2014). Katekin dan tanin merupakan penyusun gambir yang terbesar, dimana katekin merupakan monomer dari tannin. Jika sejumlah molekul katekin membentuk polimer, maka polimer yang terbentuk tergolong kepada tanin, yakni tanin kondensasi. Gambir

sebagian besar terdiri dari monomer flavanol seperti katekin, epikatekin dan alkaloid (Kasim dkk. 2015). Tanaman gambir memiliki kandungan senyawa kimia berupa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan senyawa lainnya. Senyawa penyusun gambir cukup bervariasi, tetapi sebagian besar gambir terdiri dari katekin yang termasuk dalam golongan flavonoid, yakni berkisar 40 - 60% (Anggraini dkk, 2011). Senyawa katekin termasuk kedalam polifenol golongan flavonoid dengan sifat tidak berwarna dan larut dalam air (Sukaesih, 2021). Manfaat katekin diantaranya sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas dalam tubuh. Katekin juga bermanfaat sebagai antibakteri yang dapat mencegah tumbuhnya bakteri penyebab racun pada makanan, dan sebagai imunomodulator yang mampu memodulasi sistem imun (Anjarsari, 2016). Peranan katekin sebagai imunomodulator dapat berperan sebagai imunostimulan yang mampu meningkatkan respon pada limfosit dan merangsang pembelahan sel sehingga terjadi proliferasi sel-sel imun (Devagaran, 2012). Struktur kimia katekin dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur Kimia Katekin

Sumber : (Marlinda, 2018)

Flavonoid memiliki berbagai macam kandungan metabolit dengan banyak kegunaannya bagi kesehatan, salah satunya memiliki

kemampuan sebagai antioksidan. Hal ini karena kemampuan dari katekin untuk menangkap radikal melalui proses transfer elektron (Janeiro dan Brett, 2004). Katekin dapat diekstrak dan di purifikasi dari tanaman dengan berbagai metode seperti ekstraksi cara dingin maserasi karena sifat flavonoid yang tidak tahan panas, ekstraksi cairan superkritis, kromatografi kolom, maupun metode lainnya (Vuong dkk, 2010).

2.1.4 Manfaat Tanaman Gambir

Tanaman gambir memiliki senyawa metabolit dengan beragam manfaat bagi kesehatan. Pada umumnya bagian tanaman gambir yang dimanfaatkan dan dijadikan produk berupa hasil ekstraksi rebusan daun dan ranting tanaman gambir yang dikeringkan (Gambar 2.4.). Pemanfaatan gambir oleh masyarakat Indonesia kebanyakan hanya sebatas sebagai campuran makan sirih atau sebagai obat tradisional (Saputra, 2017). Penggunaannya sebagai obat tradisional antara lain



Gambar 2.4 Getah Gambir

Sumber : (Rosalinda, 2021)

sebagai obat luka bakar, rebusan daun muda dan rantingnya sebagai obat tradisional untuk penyembuhan diare maupun hanya sekedar untuk kumur sebagai obat sakit kerongkongan. Penggunaan gambir secara modern biasa digunakan sebagai bahan baku berbagai macam industri

farmasi, industri obat, hingga industri makanan (Marlinda, 2019).

Kandungan senyawa aktif pada gambir diantaranya adalah katekin, asam catechu tannat, kuersetin, dan senyawa aktif lainnya (Kristina dkk, 2019). Senyawa katekin merupakan flavonoid utama dalam gambir, dimana senyawa golongan katekin memiliki sifat sebagai imunomodulator. Berbagai penelitian juga membuktikan bahwa gambir memiliki banyak aktivitas farmakologi lain yaitu antioksidan, antimikroba, antikanker, antidiabetes, dan lain sebagainya (Hilmi dan Rahayu, 2018). Banyaknya manfaat dari tanaman gambir menunjukkan sebuah nikmat dari Allah mengenai penciptaan berbagai macam tumbuhan untuk diambil manfaatnya oleh manusia. Allah SWT berfirman :

إِنَّمَا مَثَلُ الْحَيَاةِ الدُّنْيَا كَمَاءٍ أَنْزَلْنَاهُ مِنَ السَّمَاءِ فَاخْتَلَطَ بِهِ نَبَاتُ الْأَرْضِ مِمَّا يَأْكُلُ النَّاسُ وَالْأَنْعَامُ

Artinya : “*Sesungguhnya perumpamaan kehidupan duniawi itu, adalah seperti air (hujan) yang Kami turunkan dari langit, lalu tumbuhlah dengan subur karena air itu tanaman-tanaman bumi, di antaranya ada yang dimakan manusia dan binatang ternak*” (QS.Yunus (10): 24).

Berdasarkan Tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa Allah mengumpamakan kehidupan dunia dan perhiasannya dengan tumbuhan yang tumbuh beserta hujan yang diturunkan dari langit untuk menumbuhkannya. Tumbuhan tersebut Allah tumbuhkan dari bumi bermacam-macam seperti tanaman dan buah-buahan yang penuh dengan manfaat. Kandungan dalam ayat 24 Surah Yunus diatas

menjelaskan bentuk rahmat Allah terhadap hamba-Nya dengan tumbuhnya berbagai macam tanaman yang bermanfaat, dimana tumbuhnya tanaman tersebut diawali dengan air hujan yang dapat memunculkan kehidupan, air hujan ini kemudian jatuh ke tanah subur dan menubuhkan berbagai tanaman. Tanaman yang tumbuh di bumi mengandung berbagai manfaat serta berkah sebagai bentuk kenikmatan dari Allah SWT, dimana ayat ini juga menjelaskan bahwa kegunaan tanaman tidak hanya ditujukan kepada manusia saja tetapi kepada seluruh makhluk (Ritonga, 2012).

2.2 Mencit (*Mus musculus*)

Mencit merupakan mamalia yang umum dijadikan sebagai hewan uji dalam penelitian laboratorium (Mutiarahmi dkk, 2021). Hal ini dikarenakan adanya kesamaan respon diantara manusia dan mencit, sehingga data penelitian yang didapatkan akan lebih akurat. Penggunaan mencit sebagai hewan laboratorium juga dikarenakan beberapa kelebihan yakni struktur genetik, struktur anatomi, dan fisiologiv yang mirip manusia. Penggunaan mencit di laboratorium juga dikarenakan penanganannya yang mudah, siklus hidupnya yang relatif pendek, dan mampu memiliki anak yang banyak dalam 1x kelahiran (Hermann dkk, 2019). Berikut adalah klasifikasi dari mencit (*Mus musculus*).

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia

Famili : Muridae
Genus : *Mus*
Spesies : *Mus musculus* (Arlington, 1972).

Mencit merupakan mamalia pengerat yang memiliki ciri-ciri rambut berwarna putih dengan tekstur lembut dan halus. Badan mencit berbentuk silindris dengan berat 20 hingga 40 gram, memiliki hidung berbentuk kerucut, dan mata berwarna merah. Mencit secara alami memiliki habitat disekitar rumah, gudang, maupun sawah, namun sekarang sudah banyak dibiakkan secara laboratorium (Nugroho, 2020). Mencit betina dapat dikenali melalui genitalnya, yang juga memiliki jarak berdekatan diantara genital dan anus. Ciri mencit jantan cukup mudah dikenali karena memiliki testis yang cukup terlihat jelas dikarenakan biasanya tidak tertutup oleh rambut. Mencit betina memiliki 5 pasang kelenjar susu yang tidak dapat dijumpai pada mencit jantan, 3 pasang terdapat pada bagian ventral toraks dan 2 pasang lainnya di bagian inguinal (Darmawan, 2014). Morfologi mencit dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Morfologi Mencit (*Mus musculus*)

Sumber : (Sari, 2016)

2.3 Sistem Limfatik

Sistem imun adalah gabungan sel, molekul, dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi patogen. Sistem imun terdiri dari sistem imun non spesifik (*innate immunity*) yang sifatnya cepat namun tidak spesifik terhadap antigen, dan sistem imun spesifik (*adaptive immunity*) yang responnya lebih lambat namun lebih efektif karena spesifik antigen (Mustikasari dkk, 2021). Sistem limfatik merupakan transudat atau jalan tambahan, sehingga terdapat jalan yang mengalirkan cairan dari ruang interstisial menuju darah dimana juga berperan dalam respon imun (Sudaryat dkk, 2015).

Sistem limfatik berinteraksi dengan sistem sirkulasi darah yang berfungsi untuk drainase cairan baik dari sel maupun jaringan tubuh. Peranan sistem limfatik adalah sebagai transportasi cairan limfe dimana dalam cairan ini terdapat sel maupun faktor imunitas lain sehingga dapat terdistribusi ke seluruh tubuh (Hasanah dkk, 2012). Fungsi sistem limfatik secara umum dapat dibagi menjadi 3, fungsi yang pertama yaitu dapat memperbesar volume jaringan tubuh, dapat meningkatkan tekanan cairan interstisial, dan mampu mempertahankan konsentrasi protein yang rendah dalam cairan interstisial sehingga protein darah akan tertahan dalam jaringan tubuh ketika terjadi filtrasi oleh kapiler. Fungsi kedua dari sistem limfatik yakni memproduksi sel imunitas tubuh seperti limfosit, monosit, maupun sel penghasil antibodi/sel plasma. Adapun fungsi ketiga adalah berperan dalam transpor lemak dan kilus, serta mengabsorpsi asam lemak pada sistem sirkulasi (Anand dkk, 2017).

Sistem limfatik merupakan bagian dari sistem imun tubuh yang terdiri dari sistem konduksi, jaringan limfoid, dan organ limfoid. Sistem konduksi tersusun atas pembuluh tubuler, yang berfungsi sebagai transportasi limfe, dikarenakan hampir semua jaringan tubuh memiliki saluran limfe yang mengalirkan cairan dari interstisial (Lee dkk, 2014). Sistem limfatik memiliki jaringan limfoid yang terdistribusi di seluruh, dimana jaringan ini adalah penyambung retikuler yang diinfiltrasi oleh limfosit. Distribusi jaringan limfoid di tubuh berupa organ limfoid atau kumpulan limfosit difus maupun padat. Organ limfoid dalam sistem limfatik dapat dibedakan menjadi organ limfoid sentral/primer dan organ limfoid perifer/sekunder. Organ limfoid primer berfungsi dalam menghasilkan limfosit dari *immature progenitor cells*. Hal ini diperlukan untuk pematangan, proliferasi, maupun diferensiasi sel T dan sel B menjadi limfosit yang dapat merespon antigen spesifik. Fungsi berbeda dimiliki oleh organ limfoid sekunder, yakni berperan dalam menangkap antigen yang masuk dan menciptakan lingkungan yang sesuai bagi limfosit untuk berproliferasi, diferensiasi, serta sebagai tempat untuk mengenali antigen yang masuk (Hasanah dkk, 2012). Organ limfoid primer terdiri atas kelenjar timus dan sumsum tulang, sedangkan organ limfoid sekunder terdiri atas SALT (*skin associated lymphoid tissue*), GALT (*gut associated lymphoid tissue*), MALT (*mucosal associated lymphoid tissue*), kelenjar limfe, dan *spleen* (Pastoriza dkk, 2017).

2.4 Organ Spleen

2.4.1 Anatomi Spleen

Spleen merupakan organ yang berwarna merah tua dengan bentuk memanjang, ditutupi oleh peritoneum (Begay dkk, 2022). Organ *spleen* tersusun atas sel splenosit dimana sel ini terdapat sel T sitotoksik sekitar 50%, sel B kurang lebih 40%, sel Th sekitar 10% dan sel NK (Alquraishi dkk, 2021). Penampakan sel splenosit hidup dapat dilihat pada gambar 2.6. Organ *spleen* disebut juga limpa, merupakan organ limfoid terbesar dan berfungsi dalam pertahanan tubuh terhadap antigen melalui proses filtrasi darah dari zat asing. Darah disuplai oleh arteri limpa (cabang arteri seliaka) yang berjalan ke kiri melintasi dinding perut dorsal di bawah penutup peritoneum parietal sebelum memasuki limpa di hilus dan terbagi menjadi banyak cabang.

Spleen terletak di area abdomen depan diafragma dengan dikelilingi oleh omentum visceral kecuali pada bagian hilum. *Spleen* dipertahankan oleh 2 ligamen yaitu ligamentum splenorenal dan ligamentum gastrosplenikum. Organ *spleen* pada tikus berbentuk sedikit memanjang dari *spleen* manusia, dengan berat sekitar 100-200 mg (Maynard dan Downes, 2019). Organ *spleen* ditunjukkan pada gambar 2.5.



Gambar 2.5 Organ *Spleen*
Sumber : (Begay dkk, 2022)

2.4.2 Fisiologi *Spleen*

Spleen merupakan salah satu organ limfoid sekunder yang berperan dalam imunitas tubuh. *Spleen* atau limpa berperan dalam sistem pertahanan tubuh, dimana organ ini berhubungan dengan respon imun terhadap antigen yang berhasil mencapai aliran darah dan melawan serangan patogen atau toksin sebelum antigen menyebar (Hanum dkk, 2017). *Spleen* merupakan organ yang juga berfungsi sebagai tempat pematangan sel-sel imun yang menghasilkan antibodi spesifik antigen. Organ *spleen* juga merupakan tempat utama penghancuran sel darah merah yang sudah tua oleh makrofag dan secara imunologis dapat menyaring darah sebagai respon terhadap antigen yang dibawa bersamanya (Adrian dkk, 2020).

Limpa atau *spleen* termasuk kedalam komponen sistem limfatik sekunder dimana organ ini berperan sebagai tempat pematangan limfosit yang penting dalam menangani serangan patogen atau terhadap antigen tertentu. Terdapat banyak sel-sel fagositik pada *spleen*, yang hubungan erat dengan sirkulasi darah sel-sel ini. Organ *spleen* merupakan organ penting untuk respon cepat terhadap antigen yang dibawa dalam darah serta memiliki peranan dalam pengaturan sistem imun dimana organ ini akan berperan dalam penentuan komponen imunitas yang akan diaktifkan dalam merespon antigen (Intan dkk, 2017).

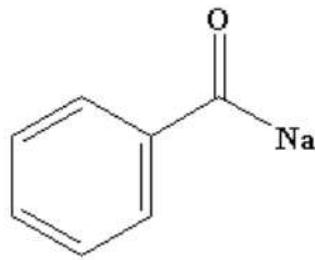
Sebagai organ limfoid sekunder dan fungsinya sebagai drainase, organ *spleen* atau limpa tentu sering dilewati oleh darah yang melalui 2 arteri limpa. Kedua arteri limpa beranastomosis di bagian dalam limpa,

membentuk sistem arteri longitudinal yang memanjang ke sepanjang organ. Sistem arteri longitudinal ini membentuk arteri trabekular (Ruberte dkk, 2017).

Adanya kontak erat antara sel-sel limfosit dalam *spleen* dengan sirkulasi darah sangat berperan dalam pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme dan antigen asing lain. Ketika terdapat antigen yang masuk bersama darah ke dalam organ limpa, maka respon yang akan terjadi adalah penambahan diameter germinal center pada limpa, yang merupakan pusat maturasi sel limfosit. Penambahan diameter germinal center juga terjadi pada penambahan imunostimulan (Rousdy dan Wardoyo, 2018). Limpa sebagai organ limfoid sekunder juga memiliki peranan sebagai tempat aktivasi dari sel imun, selain itu limpa juga berperan melawan invasi antigen asing yang bersifat patogen sebelum menyebar luas ke dalam keseluruhan tubuh ketika patogen tersebut mencapai aliran darah (Hanum dkk, 2017).

2.5 Induksi Sodium Benzoat

Sodium benzoat atau biasa disebut natrium benzoat (C_6H_5COONa) merupakan garam atau ester dari asam benzoat secara komersial yang dibuat dengan sintesis kimia. Natrium benzoat termasuk zat pengawet organik yang berwarna putih, tanpa bau, bubuk kristal atau serpihan. Sifat fisiknya adalah lebih larut dalam air dan juga dapat larut dalam alkohol (Nurhayati dkk, 2012). Struktur kimia sodium benzoat ditunjukkan pada gambar 2.6.



Gambar 2.6 Struktur Kimia Sodium Benzoat

Sumber : (Wuyung, 2016)

Sodium benzoat biasanya dimanfaatkan untuk mengawetkan jus buah, sirup, makanan yang mudah rusak, saus, selai, atau minuman (Delavar dkk, 2012). Pengonsumsi natrium benzoat secara berlebihan dapat menyebabkan keram perut, iritasi lambung, serta gangguan kesehatan lain. Pengawet ini juga bersifat akumulatif yang dapat menimbulkan penyakit kanker dalam jangka waktu panjang akibat penumpukan radikal bebas. Pemakaian bahan pengawet sodium benzoat dari satu sisi menguntungkan karena dengan bahan pengawet bahan pangan dapat dibebaskan dari kehidupan mikroba, baik yang bersifat patogen yang dapat menyebabkan gangguan keracunan atau gangguan kesehatan lainnya maupun mikroba yang nonpatogen yang dapat menyebabkan kerusakan bahan pangan (Maidah, 2015).

2.6 Imunomodulator

Sistem imun pada tubuh mampu mengenali antigen yang masuk ke dalam tubuh dan memberikan respon yang spesifik terhadap antigen tersebut. Berbagai antigen yang masuk ke dalam tubuh terkadang berasal dari patogen seperti bakteri, jamur, virus, atau bahkan sel tumor. Sistem imun tubuh mampu mengenali patogen yang masuk karena mekanisme

pertahanan bawaan maupun adaptif yang dimilikinya, sehingga mampu membunuh patogen tersebut. Hal ini juga berlaku sebaliknya, yakni patogen yang masuk kedalam tubuh juga dapat melakukan mekanisme tertentu untuk melawan/lolos dari sistem imun, oleh karena itu dibutuhkan agen dari luar tubuh untuk membantu sistem imun saat terjadi penurunan akibat patogen atau menekan sistem imun saat berlebihan (Sukmayadi dkk, 2014).

Imunomodulator merupakan zat yang dapat memodulasi sistem imun sehingga dapat menjaga keseimbangan sistem imun, baik itu meningkatkan atau menekan kinerja dari sistem imun (Perdana, 2022). Imunomodulator dapat dikategorikan menjadi imunostimulan dan imunosupresan. Imunostimulan merupakan substansi yang dapat meningkatkan sistem imun dengan memodulasi komponen penyusun sistem imun, hal ini akan sangat berguna ketika melawan serangan patogen atau ketika imun dalam kondisi menurun. Imunomodulator juga dapat bekerja untuk menekan respon imun, yang disebut imunosupresan. Imunosupresan biasanya digunakan untuk pengobatan penyakit auto imun, atau memodulasi reaksi penolakan oleh tubuh agar berkurang, misalnya untuk menurunkan reaksi alergi tubuh terhadap antigen tertentu, atau kepada pasien setelah melakukan operasi (Hadi dkk, 2020).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 6 perlakuan dan 4 ulangan.

Tabel 3.1 Desain Perlakuan

Ulangan	Perlakuan					
	P0	P1	P2	P3	P4	P5
1	P0.1	P1.1	P2.1	P3.1	P4.1	P5.1
2	P0.2	P1.2	P2.2	P3.2	P4.2	P5.2
3	P0.3	P1.3	P2.3	P3.3	P4.3	P5.3
4	P0.4	P1.4	P2.4	P3.4	P4.4	P5.4

Keterangan :

P0 : mencit yang diinduksi sodium benzoat 500mg/kgBB.

P1 : mencit tanpa induksi sodium benzoat dan tanpa pemberian ekstrak getah gambir.

P2 : mencit yang diinduksi sodium benzoat 500mg/kgBB dan pemberian ekstrak getah gambir dosis 50 mg/kgBB.

P3 : mencit yang diinduksi sodium benzoat 500mg/kgBB dan pemberian ekstrak getah gambir dosis 100 mg/kgBB.

P4 : mencit yang diinduksi sodium benzoat 500mg/kgBB dan pemberian ekstrak getah gambir dosis 150 mg/kg BB.

P5 : mencit yang diinduksi sodium benzoat 500mg/kgBB dan pemberian ekstrak getah gambir dosis 200 mg/kg BB.

Semua perlakuan masing-masing dulang sebanyak 4 kali berdasarkan rumus federer $[(n-1)(t-1) \geq 15]$, dengan hitungan sebagai berikut.

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

$$(n-1)(6-1) \geq 15$$

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n = 4$$

Keterangan:

t : jumlah perlakuan

n : jumlah ulangan minimal dari tiap perlakuan

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* terhadap mencit DDY betina dengan umur 2 bulan yang diinduksi sodium benzoat dan pemberian ekstrak gambir berbagai dosis. Efek yang ditimbulkan dari berbagai perlakuan diamati pada sel splenosit hidup.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian skala laboratorium ini dimulai pada bulan September 2022 – Juni 2023 di Laboratorium Terintegrasi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Sunan Ampel Surabaya. Jadwal penelitian dijasikan pada tabel 2.3.

Tabel 3.2 Jadwal Penelitian Skala Laboratorium

No.	Kegiatan	Bulan											
		9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	
1.	Penyusunan Proposal Skripsi	■	■	■	■								
2.	Seminar Proposal				■								
3.	Penelitian di Laboratorium					■	■	■	■				
4.	Analisis Data									■	■		
5.	Penulisan draft skripsi											■	■
6.	Sidang Skripsi												■

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kertas saring, ayakan 60 mesh, blender, gelas beker, erlenmeyer, oven, ultrasonikator, corong, aluminium foil, plastik warp, neraca analitik, spatula, pengaduk, kandang mencit, tempat makan mencit, tempat minum mencit, spuit, jarum sonde, mikropipet, mikrotube, tisu, mikroskop, cover glass, objek glass, alat bedah, hemocytometer, rotary evaporator, alat tulis, dan alat pendukung lainnya.

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah getah gambir (*Uncaria gambir* Roxb.), sodium benzoat, etil asetat, HCl, serbuk Mg, pereaksi mayer, FeCl₃, asam sulfat, asam asetat anhidrat, kloroform, alkohol, aquades, PBS, *trypan blue*, sekam dan pakan mencit.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi dosis ekstrak gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) yang diberikan terhadap mencit (*Mus musculus*) secara oral.

3.4.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah efek imunomodulator berupa perubahan jumlah splenosit hidup pada organ *spleen*.

3.4.3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah dosis sodium benzoat, lama pemberian ekstrak gambir dan sodium benzoat, jenis mencit (DDY), umur mencit, organ *spleen* mencit.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Determinasi Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji mencit (*Mus musculus*) galur *Deutsch Denken Yoken* (DDY) berumur 5 minggu, dengan jenis kelamin betina yang diperoleh dari Pusat Veteraria Farma (PUSVETMA) Surabaya. Penggunaan mencit betina dikarenakan sifatnya yang cenderung tidak agresif dibandingkan mencit jantan, sehingga mudah ditangani dalam satu kandang dengan jumlah yang banyak (Hasanah dkk, 2015).

3.5.2 Determinasi Tanaman

Determinasi gambir digunakan untuk menetapkan kredibilitas tanaman sampel dalam penelitian. Determinasi tanaman gambir dilakukan dengan menyesuaikan ciri morfologi dari tanaman gambir terhadap pustaka dan dibuktikan di laboratorium.

3.5.3 Ekstraksi Getah Gambir

Getah gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) didestruksi dengan alu dan mortar, kemudian diayak dengan saringan 60 mesh hingga didapatkan serbuk (Mahendra dan Azhar, 2020). Tujuan bahan dibuat serbuk halus adalah memperluas permukaan bahan, sehingga pelarut akan lebih mudah dalam mengekstrak senyawa yang terkandung dalam bahan (Tambun dkk, 2016). Serbuk gambir sebanyak 100 gram direndam dalam 400 ml pelarut etil asetat kemudian diultrasonik selama 90 menit. Proses ultrasonik dimaksudkan agar dinding sel dari bahan pecah akibat getaran

ultrasonik, sehingga kandungan yang ada didalamnya dapat keluar dengan mudah saat ekstraksi dengan pelarut (Adhiksana, 2017).

Hasil ultrasonik kemudian dimaserasi selama 3x24 jam, lalu disaring dengan kertas whatmann hingga terpisah dengan ampasnya. Filtrat ditampung kedalam erlenmeyer, sedangkan ampas diremaserasi selama 1x24 jam dengan prosedur yang sama. Pelarut diuapkan dengan rotary evaporator selama 1 jam hingga didapatkan ekstrak kering gambir. Ekstrak kering dikerok dengan spatula dan ditampung dalam cawan petri (Ningsih dan Rahayuningsih, 2019).

3.5.4 Uji Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Ekstrak gambir dimasukkan kedalam erlenmeyer sebanyak 1 gram dan ditambahkan akuades 100 ml. Proses selanjutnya dilakukan pemanasan selama 5 menit dan didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan. Dipisahkan lapisan bagian atas lalu ditambahkan HCl 1ml beserta serbuk Mg. Ekstrak dikatakan mengandung flavonoid jika terdapat warna merah hingga kuning (Thaib dkk, 2021).

b. Uji Alkaloid

Ekstrak gambir diambil sebanyak 2 gram dan diuapkan diatas pada cawan porselin, setelah itu residu dilarutkan dengan HCL sebanyak 5ml. Larutan ekstrak kemudian dimasukkan kedalam 3 tabung reaksi dan ditetesi HCl 2N sebanyak 3 tetes pada tabung pertama yang berfungsi sebagai blanko. Pada tabung kedua ditetesi dragendorff dan tabung ketiga dengan pereaksi Mayer. Ekstrak gambir mengandung alkaloid jika

terbentuk endapan berwarna jingga pada tabung kedua, dan warna putih pada tabung ketiga (Thaib dkk, 2021).

c. Uji Saponin

Ekstrak gambir dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 2 gram kemudian ditambahkan 10 ml akuades yang telah dipanaskan. Proses selanjutnya yakni larutan dikocok selama 1 menit dan didiamkan selama 10 menit untuk kemudian diamati. Ekstrak mengandung saponin jika terdapat busa yang terbentuk (Thaib dkk, 2021).

d. Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan mengambil 2 gram ekstrak gambir dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Proses selanjutnya adalah penambahan akuades yang telah dipanaskan sebanyak 10 ml. Ditetaskan FeCl_3 1% sebanyak 2 tetes, ekstrak mengandung tanin jika terbentuk warna hijau kehitaman (Thaib dkk, 2021).

e. Uji Steroid

Ekstrak gambir dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 2 gram dan ditambahkan etil asetat sebanyak 2 ml, kemudian dilakukan pengocokan. Proses selanjutnya yakni pengambilan larutan dan ditetaskan diatas kaca arloji, kemudian dibiarkan mengering. Setelah mengering, ditetesi 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Ekstrak gambir positif mengandung steroid jika terbentuk warna hijau (Thaib dkk, 2021).

3.5.5 Penetapan Dosis Ekstrak Getah Gambir

Dosis yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada penelitian Putri (2021) yang menguji efek imunomodulator ekstrak katekin gambir pada mencit. Adapun dosis optimal yang digunakan adalah 200 mg/kg BB yang mampu meningkatkan titer antibodi, jumlah leukosit, dan persentase limfosit mencit. Penelitian ini menggunakan dosis yang mengacu pada penelitian tersebut dikarenakan memiliki tujuan yang sama yaitu melihat efek imunomodulator ekstrak gambir, dosis tersebut dipecah untuk melihat efek yang lebih luas, sehingga didapatkan dosis sebagai berikut.

Dosis I : 50 mg/kg BB

Dosis II : 100 mg/kg BB

Dosis III : 150 mg/kg BB

Dosis IV : 200 mg/kg BB

3.5.6 Aklimatisasi Mencit

Mencit DDY berumur sekitar 5 minggu diletakkan pada 6 buah kandang yang berada pada *animal room* Laboratorium Taksonomi Hewan UIN Sunan Ampel Surabaya. Kandang diisi sebanyak 4 mencit dengan pemberian makan dan minum dilakukan setiap hari, sedangkan penggantian sekam dilakukan tiap 3 hari sekali. Proses aklimatisasi mencit dilakukan hingga mencapai 7 hari agar mencit yang digunakan beradaptasi terhadap lingkungan sekitarnya yang baru (Fithria dkk, 2018).

3.5.7 Induksi Sodium Benzoat

Pemberian sodium benzoat dilakukan secara oral menggunakan sonde dengan dosis 500mg/kgBB. Sodium benzoat dilarutkan dengan aquades dan dimasukkan kedalam sonde, kemudian diberikan secara oral melalui mulut mencit secara hati-hati hingga jarum masuk kedalam esofagus mencit. Perlakuan pemberian sodium benzoat dilakukan setiap hari selama 30 hari (Budianto dkk, 2019).

3.5.8 Pemberian Ekstrak Gambir

Mencit yang telah menjalani induksi sodium benzoat selama 30 hari, selanjutnya diberikan ekstrak getah gambir secara oral dengan metode yang sama seperti pemberian sodium benzoat. Dosis perlakuan meliputi dosis 1 (50 mg/kg BB), dosis 2 (100 mg/kg BB), dosis 3 (150mg/kg BB), dan dosis 4 (200mg/kg BB). Pemberian ekstrak gambir dilakukan selama 14 hari berturut-turut pada pagi sekitar pukul 09.00-12.00 WIB (Adelina dkk, 2013).

3.5.9 Pengoleksian Organ *Spleen*

Mencit dibius dengan kloroform, kemudian diletakkan diatas papan bedah secara telentang. Bulu dan kulit abdomen mencit kemudian disemprot alkohol 70% agar steril dan mulai dilakukan pembedahan abdomen mencit dari bagian urogenital secara vertikal hingga ke kerongkongan. Setelah nampak isi abdomen, organ abdomen yang menutupi *spleen* disingkirkan dengan menggunakan pinset hingga tampak organ *spleen* yang berwarna merah tua kehitaman untuk kemudian dicari pangkalnya dan dipotong. Organ spleen mencit yang

telah diambil diletakkan dalam botol vial yang telah diisi PBS (Qarni dan Rifa'i, 2013).

3.5.10 Penghitungan Sel Splenosit

Organ *spleen* yang diambil dari mencit dicuci dengan PBS, kemudian diletakkan pada cawan petri berisi PBS. Organ limpa dihancurkan dengan ujung object glass diatas cawan petri berisi PBS. Suspensi yang didapatkan disaring dengan *cell strainer* 70 μm agar potongan kasar organ tersaring. Proses selanjutnya suspensi disedot dengan syringe ukuran 26G dan dikeluarkan lagi diatas cawan petri, proses ini dilakukan hingga 3 kali dan dilanjutkan dengan ukuran syringe 22G dan 18G masing-masing 3 kali pengulangan. Proses penyedotan dan pengeluaran dengan syringe berbagai ukuran bertujuan agar tidak terjadi penumpukan pada sel splenosit. Selanjutnya dilakukan pengambilan suspensi sebanya 100 μl dan ditambahkan 100 μl *trypan blue* lalu dihomogenkan dalam mikrotube. Sel splenosit hidup diamati dan dihitung dengan *haemocytometer* dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali (Qarni dan Rifa'i, 2013).

3.6 Analisis Data

Pengambilan data penelitian ini bertujuan untuk menguji efek imunomodulator ekstrak getah gambir terhadap jumlah splenosit mencit. Analisis statistik dilakukan menggunakan *software* SPSS versi 16 pada sistem operasi *Windows*. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan Kolmogorov Smirnov untuk uji normalitas dan homogenitas dan

dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA. Uji lanjutan dilakukan menggunakan *Post Hoc Duncant* (Saadah dkk, 2020).



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Getah Gambir (*Uncaria gambir*)

Uji fitokimia ekstrak getah gambir bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa kimia pada ekstrak dengan melihat perubahan warna pada ekstrak setelah direaksikan dengan pereaksi tertentu (Jafar dkk, 2020). Sebelum dilakukan uji fitokimia, getah gambir di ekstrak terlebih dahulu menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada temperatur tertentu. Pada saat proses perendaman, akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut organik yang digunakan (Wijaya & Jubaidah, 2022). Metode maserasi merupakan metode ekstraksi dengan cara dingin, sehingga cocok digunakan untuk ekstraksi getah gambir yang sebagian besar terdiri dari senyawa flavonoid berupa katekin dan asam kateku tannat yang tidak tahan suhu tinggi (Isnawati dkk, 2012). Pelarut etil asetat digunakan dalam maserasi kali ini, karena bersifat semi polar. Kepolaran pelarut etil asetat memiliki kesamaan dengan kepolaran katekin yang menyusun sebagian besar getah gambir, sehingga diharapkan senyawa akan lebih mudah terekstrak dan mendapatkan rendemen yang besar (Kiswandono, 2017). Rendemen hasil ekstraksi getah gambir disajikan dalam tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil perhitungan persen rendemen ekstrak getah gambir

Sampel	Berat Awal (gr)	Hasil Ekstraksi (gr)	Jumlah Pelarut Etil Asetat (mL)	Rendemen (%)
Getah gambir	100	30,05	400	30,05

Rendemen ekstrak getah gambir diuapkan pelarutnya dengan rotari evaporator hingga kering, ekstrak kemudian dihaluskan hingga berbentuk serbuk dan dilakukan uji fitokimia. Beberapa uji fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak getah gambir antara lain uji flavonoid, tanin, terpenoid, steroid, dan saponin. Hasil uji fitokimia sejalan dengan penelitian Melati dan Parbuntari (2022), dimana hasil menunjukkan ekstrak getah gambir positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, dan saponin, sedangkan terpenoid menunjukkan hasil negatif. Hasil uji fitokimia lebih lanjut disajikan dalam tabel 4.2 berikut.

Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Getah Gambir

No	Senyawa	Hasil Referensi		Hasil Observasi		Keterangan
		Karakteristik	Gambar	Karakteristik	Gambar	
1	Flavonoid* **	Perubahan warna menjadi oranye, kemerahan		Perubahan warna menjadi kemerahan		(+)

2	Alkaloid*	Terbentuk endapan putih		Terbentuk endapan putih		(+)
3	Tanin**	Terbentuk warna hijau kehitaman		Terbentuk warna hijau kehitaman		(+)
4	Steroid*	Terbentuk warna biru kehijauan		Tidak terjadi perubahan warna		(-)
5	Saponin***	Terbentuk buih stabil selama 2 menit		Terbentuk buih stabil selama 2 menit		(+)

Keterangan : *(Parbuntari, 2022) **(Septiana dkk, 2017) *** (Nugrahani dkk, 2016) **** (Dewi dkk., 2013)

Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak gambir positif mengandung flavonoid ditandai dengan berubahnya warna sampel menjadi kemerahan

setelah ditetesi HCl dan serbuk Mg. Hasil positif flavonoid pada ekstrak gambir sesuai dengan penelitian Tavita dkk (2022), yang menunjukkan ekstrak etil asetat gambir memiliki kandungan flavonoid ditandai dengan perubahan warna sampel menjadi merah bata. Perubahan warna sampel menjadi kemerahan merupakan reaksi reduksi antara senyawa flavonoid dengan Mg dan HCl pekat, dimana penambahan logam Mg dan HCl akan mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid dan menghasilkan garam flavilium yang berwarna jingga kemerahan (Oktavia & Sutoyo, 2021). Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenolik yang dapat ditemukan melimpah pada tumbuhan. Kadar flavonoid pada tanaman gambir merupakan yang terbesar, yakni sekitar 60%. Flavonoid dapat ditemukan pada bagian tumbuhan seperti daun, buah, akar, bahkan kulit batang, hal ini sesuai dengan bahan baku pembuatan getah gambir yang merupakan olahan dari daun dan ranting tanaman gambir, sehingga keberadaan flavonoid dapat ditemukan melimpah pada gambir (Lumbessy dkk, 2013).

Uji fitokimia terhadap ekstrak getah gambir juga menunjukkan positif alkaloid yang ditandai dengan adanya endapan putih. Pereaksi yang digunakan adalah pereaksi Mayer, dimana hal ini sejalan dengan penelitian Isromarina dkk (2019), yang menunjukkan hasil positif alkaloid yang ditunjukkan dengan adanya endapan warna putih. Endapan berwarna putih terbentuk karena adanya reaksi yang membentuk kompleks kalium-alkaloid. Penambahan asam klorida pekat kedalam ekstrak getah gambir akan bereaksi dengan senyawa alkaloid membentuk garam yang mudah larut dalam air, asam klorida pekat juga bersifat asam sehingga akan mengekstrak alkaloid yang sifatnya basa. Adapun pereaksi yang digunakan adalah reagen Mayer yang mengandung kalium iodida

dan merkuri klorida (kalium tetraiodomerkurat(II)) (Wardhani & Supartono, 2015). Senyawa alkaloid yang memiliki pasangan elektron bebas pada atom hidrogen akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari merkuri klorida (kalium tetraiodomerkurat(II)) reagen mayer, sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid yang kemudian mengendap berwarna putih (Ergina dkk, 2014).

Hasil uji senyawa tanin sesuai dengan penelitian Jaya dkk (2012), yang menunjukkan hasil positif dengan terjadinya perubahan warna pada ekstrak gambir menjadi hijau kehitaman setelah ditambahkan reagen $FeCl_3$. Penambahan reagen $FeCl_3$ untuk menentukan apakah sampel uji mengandung senyawa fenol, dimana salah satunya adalah tanin. Terbentuknya warna hijau kehitaman merupakan reaksi antara gugus hidroksil tanin dengan ion Fe^{3+} (Irianty & Komalasari, 2013). Menurut penelitian Hilmi dan Rahayu (2018), kadar tanin pada tanaman gambir sekitar 25%. Uji fitokimia terhadap ekstrak getah gambir juga menunjukkan hasil positif saponin. Hasil positif saponin sesuai dengan penelitian dari Melati dan Parbuntari (2022) yang menunjukkan adanya busa yang timbul setelah dilakukan pengocokan terhadap sampel, busa yang timbul bersifat stabil selama lebih dari 5 menit.

Saponin merupakan senyawa yang memiliki gugus polar dan non polar sehingga memiliki sifat seperti sabun, atau sering disebut surfaktan alami. Gugus polar saponin memiliki sifat hidrofilik, sedangkan gugus non polar memiliki sifat hidrofobik. Pengocokan pada ekstrak getah gambir mengakibatkan gugus yang bersifat hidrofilik akan berikatan dengan air, sedangkan gugus yang bersifat hidrofobik berikatan dengan udara, maka terbentuklah busa atau buih (Suleman dkk, 2022). Hasil uji fitokimia terakhir

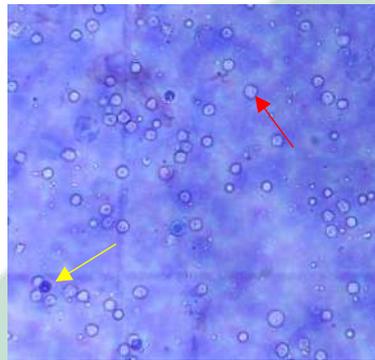
adalah steroid yang menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuk warna biru kehijauan setelah penambahan HCl pekat dan H₂SO₄ pekat. Perubahan warna menjadi biru kehijauan dikarenakan adanya reaksi senyawa steroid dengan HCl dan H₂SO₄ (Oktavia dan Sutoyo, 2021). Hasil negatif dimungkinkan karena ekstraksi getah gambir yang menggunakan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar, sedangkan senyawa steroid bersifat non polar, sehingga senyawa steroid tidak terekstrak dengan sempurna (Ergina dkk, 2014).

4.2 Pengaruh Ekstrak Getah Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) terhadap Jumlah Splenosit

Aktivitas imunomodulator ekstrak getah gambir terhadap mencit yang diinduksi sodium benzoat dilakukan dengan melihat pengaruh pemberian ekstrak getah gambir terhadap jumlah splenosit mencit yang diinduksi sodium benzoat. Pemberian sodium benzoat dilakukan secara oral selama 30 hari sebagai antigen untuk merangsang respon imun pada mencit. Adapun pemberian ekstrak getah gambir berfungsi sebagai imunomodulator yang diharapkan dapat meningkatkan imunitas mencit setelah diberi sodium benzoat. Setelah pemberian ekstrak getah gambir selama 14 hari, mencit dikorbankan dan dilakukan pengamatan terhadap jumlah splenosit mencit.

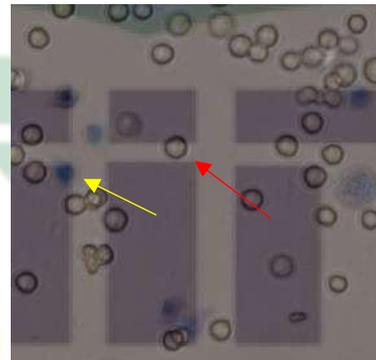
Sel splenosit didapatkan dari organ limpa yang diisolasi dari mencit, limpa yang telah diisolasi lalu digerus dan ditambahkan 5ml *phosphate buffered saline* (PBS) yang berfungsi mengatur keseimbangan osmolaritas sel dan mengatur pH agar sel mendapat lingkungan yang sesuai seperti dalam keadaan *in vivo* (Rosdiana & Hadisaputri, 2016). Sel splenosit yang telah

disuspensi dengan PBS di-*wire* untuk menghilangkan debris, setelah itu diambil 10 μ l suspensi sel kedalam mikrotube dan ditambahkan pewarna *trypan blue* 10 μ l (1:1) lalu dihomogenkan. Sel splenosit hidup dan mati diamati dan dihitung dengan *haemocytometer* dibawah mikroskop dengan perbesaran 200 kali (Qarni dan Rifa'i, 2013). Hasil pengamatan sel splenosit ditunjukkan pada gambar 4.1.



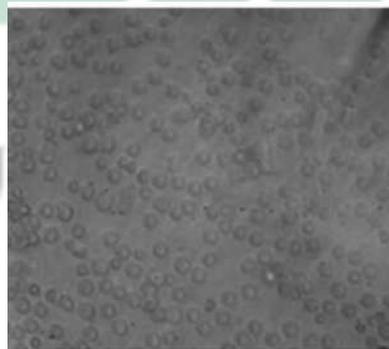
Gambar 4.1. Perbedaan sel splenosit hidup dan mati.

Sumber : (dokumentasi pribadi)



Gambar 4.2. Literatur perbedaan sel splenosit hidup dan mati

Sumber : (Sitrus, 2013)



Gambar 4.3. Literatur sel splenosit
Sumber : (Ebrahim dkk, 2020)

Keterangan : —→ Sel splenosit hidup

—→ Sel splenosit mati

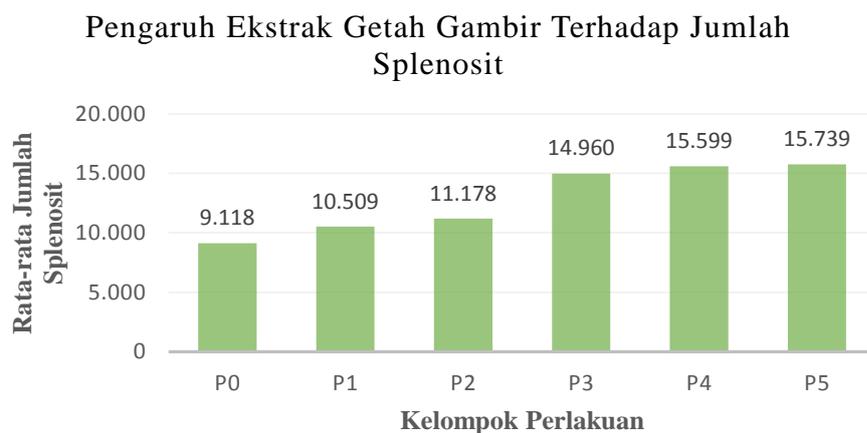
Gambar 4.1 menunjukkan perbedaan antara sel splenosit hidup dan sel splenosit mati. Sel splenosit hidup menunjukkan warna putih transparan sedangkan sel splenosit hidup berwarna biru. Perbedaan warna antara sel

splenosit hidup dan mati disebabkan karena zat warna *trypan blue*, hal ini dikarenakan sel normal mempunyai membran sel yang masih normal dan utuh sehingga mampu menahan zat asing yang masuk ke dalam sel seperti pewarna *trypan blue*, sementara sel mati membran selnya telah rusak sehingga tidak mempunyai kemampuan untuk menahan zat asing yang mengakibatkan zat warna masuk ke dalam sel (Bahidkk, 2016). Splenosit merupakan salah satu jenis sel darah putih yang berasal dari organ limpa, yang merupakan organ limfoid terbesar. Limpa termasuk organ limfatik sekunder yang memiliki peran penting dalam homeostasis sistem imun dan hematopoietik (Wang dkk, 2019). Limpa berperan dalam menyimpan dan memurnikan eritrosit, memetabolisme hemoglobin, selain itu juga menyediakan fungsi penting untuk sistem kekebalan tubuh dengan respons imun primer terhadap antigen di darah dan sintesis antibodi (Berrington dkk, 2005).

Splenosit merupakan salah satu sel darah putih mononuklear yang terdiri dari berbagai populasi sel seperti limfosit T, limfosit B, sel NK, dan Sel T NK. Splenosit secara umum digunakan dalam penelitian dan kultur primer, karena dapat digunakan untuk mengisolasi sel T CD4⁺, sel T CD8⁺ dan sel B CD45R⁺. Jumlah splenosit merupakan salah satu cara untuk mengetahui adanya respon imun terhadap antigen, dikarenakan splenosit mengandung sel-sel imun dan jumlah dari splenosit mengindikasikan adanya proliferasi sel imun sebagai bentuk respon imun seluler dan humoral (Faradila dan Iwo, 2013). Splenosit biasa digunakan untuk berbagai tes seperti aktivasi sel-T, proliferasi sebagai respons terhadap antigen, maupun digunakan untuk berbagai macam aplikasi berbasis imunologi. Splenosit dalam berbagai

penelitian juga digunakan dalam tes sitotoksitas, pengujian ekstrak tanaman, apoptosis dan studi toksikologi (Ebrahim dkk, 2020). Banyaknya sel imun dalam splenosit, maka jumlah splenosit pada penelitian ini dijadikan parameter pengaruh ekstrak getah gambir sebagai imunomodulator, dikarenakan proliferasi splenosit menunjukkan adanya respon dari sel-sel imun.

Setelah diketahui perbedaan sel splenosit hidup dan mati, kemudian dilakukan penghitungan terhadap sel splenosit tersebut. Jumlah splenosit hidup masing-masing perlakuan dihitung nilai rata-ratanya (data lengkap tertera pada lampiran), adapun hasil hitung rata-rata jumlah splenosit hidup semua perlakuan disajikan dalam histogram pada gambar 4.4.



Gambar 4.4 Histogram Jumlah Splenosit Hidup Mencit

Keterangan : **P0** (sodium benzoat 500mg/kgBB/kontrol negatif), **P1**(kontrol positif/normal), **P2**(ekstrak getah gambir 50mg/kgBB), **P3**(ekstrak getah gambir 100mg/kgBB), **P4** (ekstrak getah gambir 150mg/kgBB), **P5** (ekstrak getah gambir 200mg/kgBB).

Berdasarkan data histogram dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah splenosit hidup pada kelompok kontrol negatif(P0) adalah 9.118, dimana jumlah ini mengalami penurunan sebesar 15,2% jika dibandingkan kelompok kontrol positif(P1) dengan jumlah splenosit 10.509. Jumlah splenosit pada

kelompok kontrol negatif dengan pemberian sodium benzoat mengalami penurunan diduga karena respon imun terhadap antigen sodium benzoat. Organ limfoid sekunder seperti limpa berfungsi untuk menangkap dan mengumpulkan antigen dengan efektif, untuk proliferasi dan diferensiasi sel-sel imun. Sel imun seperti sel limfosit mengalami resirkulasi dari organ limfoid satu kelainnya, kesaluran limfe dan darah, sehingga disaat terjadi infeksi akan banyak limfosit terpapar dengan antigen atau bahkan patogen penginfeksi (Zuhra, 2022). Limfosit yang telah distimulasi oleh antigen spesifik akan segera membelah dan akan mengekspresikan reseptor baru yang memungkinkan mereka untuk merespon terhadap sitokin dari sel lain yang merupakan sinyal proliferasi. Jumlah splenosit pada pemberian antigen sodium benzoat seharusnya mengalami peningkatan sejalan dengan proliferasi sel-sel imun dalam menanggapi antigen sodium benzoat, namun dalam perlakuan kali ini justru mengalami penurunan. Hal ini diduga akibat efek samping dari paparan sodium benzoat yang dapat menyebabkan stress oksidatif yang menyebabkan meningkatnya radikal bebas dalam tubuh. Penumpukan efek negatif sodium benzoat selama 30 hari juga diduga menyebabkan penurunan respon imun dan menyebabkan ketidakmampuan sistem imun untuk menetralsir antigen sodium benzoat yang bersifat patogen sehingga berimbas pada penurunan sel splenosit (Jafet, 2022).

Sodium benzoat juga memiliki efek immunosupresan diduga turut menjadi faktor yang menyebabkan jumlah splenosit menurun. Dar dkk (2017), menyebutkan bahwa sodium benzoat dapat menyebabkan penghambatan proliferasi limfosit T, selain itu sodium benzoat juga dapat menurunkan

ekspresi sitokin IL-4, IL-6, IFN- γ dan IL-17. Penelitian Maier dkk (2010), menunjukkan bahwa sodium benzoat mampu menekan proliferasi sel Th1, hal ini mungkin dapat mengurangi respon inflamasi, tetapi disisi lain dapat menurunkan respon imun terhadap patogen yang masuk. Sodium benzoat juga dapat menyebabkan stres oksidatif, dimana semakin lama sodium benzoat terkumulasi dapat mengakibatkan penumpukan radikal bebas dapat menyebabkan kanker ataupun kerusakan sel (Nowicka dan Herbet, 2022).

Penghitungan jumlah splenosit juga dilakukan terhadap kelompok pemberian ekstrak getah gambir. Data pada histogram menunjukkan bahwa rata-rata jumlah splenosit mengalami peningkatan setelah pemberian ekstrak getah gambir pada semua dosis jika dibandingkan kelompok kontrol negatif maupun kelompok kontrol positif. Rata-rata jumlah splenosit pada kelompok pemberian ekstrak getah gambir 50mg/kgBB sebesar 11.178, dimana jumlah ini meningkat 22,5% jika dibandingkan kelompok kontrol negatif, dan meningkat sebesar 6,3% dibandingkan kelompok kontrol positif. Pada pemberian ekstrak getah gambir 100mg/kgBB, rata-rata jumlah splenosit sebesar 14.960, meningkat sebesar 64% jika dibandingkan kelompok kontrol negatif dan meningkat sebesar 42,3% dibandingkan kontrol positif. Pemberian ekstrak getah gambir dosis 150mg/kgBB menunjukkan rata-rata jumlah splenosit sebesar 15.599, meningkat 75% dibanding kelompok kontrol negatif dan meningkat 48,4% dibandingkan kelompok kontrol positif. Dosis terakhir adalah pemberian ekstrak getah gambir 200mg/kgBB, meningkatkan rata-rata jumlah splenosit sebesar 72,6% dibandingkan kelompok kontrol negatif dan meningkat sebesar 49,7% jika dibandingkan kelompok kontrol positif.

Jumlah splenosit mencit pada pengulangan kedua dosis 150mg/kgBB tidak diikutsertakan dikarenakan kondisi mencit yang terlalu kecil dibandingkan lainnya, sehingga membuat data menjadi tidak valid. Hal ini diduga karena mencit mengalami sakit sehingga kondisinya berbeda jika dibandingkan kelompok lain. Hasil lengkap mengenai penghitungan jumlah splenosit tertera pada lampiran.

Selanjutnya dilakukan uji statistik terhadap data dengan *One Way-ANOVA* untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh ekstrak getah gambir terhadap jumlah splenosit mencit. Sebelum dilakukan uji *One Way-ANOVA*, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan homogenitas terhadap data. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dengan nilai probabilitas masing-masing perlakuan berada diatas 0,05 ($P>0.05$), sedangkan uji homogenitas menunjukkan hasil sebesar 0,197 ($P>0.05$) yang menunjukkan bahwa data homogen. Data yang terdistribusi normal dan homogen menunjukkan telah memenuhi syarat untuk dilanjutkan dengan uji *One Way-ANOVA*. Hasil uji *One Way-ANOVA* menunjukkan nilai probabilitas sebesar 0,000 ($P<0,05$), sehingga dapat dikatakan ekstrak getah gambir dapat mempengaruhi jumlah splenosit mencit yang diinduksi sodium benzoat.

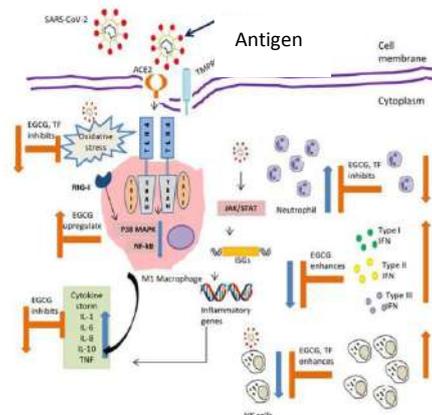
Hasil uji *One Way-ANOVA* menunjukkan bahwa ekstrak getah gambir memiliki pengaruh terhadap jumlah splenosit mencit, pengujian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Duncan* untuk melihat apakah ekstrak getah gambir berbagai dosis secara signifikan mampu meningkatkan jumlah splenosit. Hasil uji *Post Hoc Duncan* menunjukkan bahwa ekstrak getah gambir dosis 100, 150 dan 200mg/kgBB berpengaruh nyata terhadap jumlah splenosit jika

dibandingkan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif, sedangkan dosis 50mg/kgBB tidak berpengaruh nyata. Uji *post hoc duncan* juga menunjukkan bahwa dosis terbaik dalam penelitian ini yang mampu meningkatkan jumlah splenosit adalah 200mg/kgBB. Data pada histogram menunjukkan grafik yang terus naik sejalan dengan penambahan dosis ekstrak, hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak maka persentase kenaikan jumlah splenosit juga semakin tinggi. Data uji spss secara lengkap dapat dilihat di lampiran.

Meningkatnya jumlah splenosit setelah pemberian ekstrak getah gambir diduga karena kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman gambir yang memiliki peran sebagai imunostimulan (Eriani, 2018). Kandungan metabolit sekunder pada ekstrak getah gambir salah satunya adalah flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa yang dapat meningkatkan proliferasi limfosit, dimana limfosit merupakan salah satu sel target dari imunomodulator karena mempunyai peran sebagai induktor imunitas terutama dalam membantu dalam menstimulasi mekanisme pertahanan seluler. Pertahanan seluler inilah yang bertugas membasmi antigen yang masuk kedalam tubuh. Senyawa flavonoid pada ekstrak getah gambir juga dapat meningkatkan produksi IL-2 yang dapat mempengaruhi proliferasi limfosit T, karena proliferasi limfosit T dirangsang oleh antigen, terutama diatur oleh pengaruh IL-2 terhadap reseptor IL-2 yang dimiliki pada selnya (Putri, 2021). Peranan dari flavonoid juga didukung oleh penelitian Devagaran & Diantini (2012), yang menyebutkan bahwa flavonoid memiliki sifat sebagai imunomodulator yang dapat meningkatkan respon pada limfosit dan merangsang pembelahan sel sehingga terjadi proliferasi. Mekanisme flavonoid sebagai imunomodulator, yaitu

dengan cara memicu proliferasi limfosit, meningkatkan jumlah sel T dan meningkatkan aktivitas IL-2.

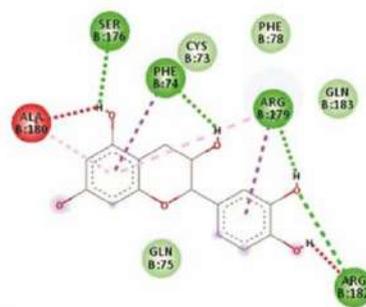
Salah satu senyawa golongan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak getah gambir adalah katekin, dimana senyawa ini merupakan senyawa utama yang menyusun gambir (Rahmawati dkk, 2012). Penelitian menunjukkan bahwa katekin dapat berperan sebagai imunomodulator. Gambaran katekin sebagai imunomodulator dapat berperan sebagai penyeimbang sistem imun ketika terdapat antigen yang masuk kedalam tubuh yang sifatnya patogen. Gambaran umum katekin sebagai imunomodulator dapat dilihat pada gambar 4.4. Antigen yang masuk kedalam tubuh dapat berikatan dengan berbagai reseptor sel. Pada gambar 4.5 respon imun akibat antigen masuk ditunjukkan oleh panah biru, yang mengakibatkan respon imun yang beragam. Gambar 4.5 menunjukkan peranan katekin dalam menyeimbangkan sistem imun akibat adanya antigen yang masuk, yakni penyeimbangan sitokin pro inflamasi, sel natural killer, neutrofil, serta sifatnya sebagai antioksidan yang ditunjukkan dengan panah oranye (Chowdhury dan Barooah, 2020).



Gambar 4.5 Peran Katekin Sebagai Imunomodulator

Sumber : (Chowdhury dan Barooah, 2020)

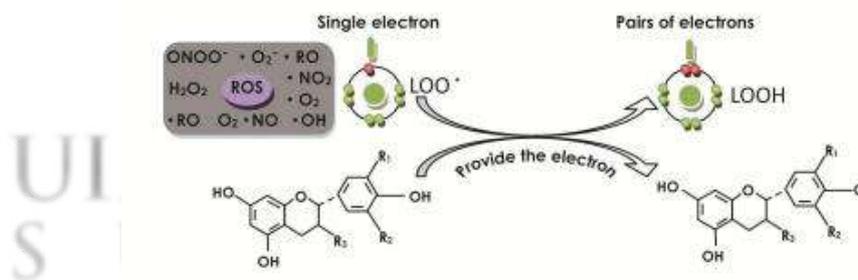
Beberapa penelitian menunjukkan bahwa katekin memiliki fungsi sebagai imunomodulator, salah satu penelitian dilakukan oleh Rahayu dkk (2016), yang menunjukkan bahwa katekin dapat meningkatkan ekspresi dari interleukin IL-8, dan IL-17A. Penelitian dari Kuo dkk (2014), menunjukkan bahwa katekin dapat meningkatkan sekresi dari IL-2 dan IFN- γ . Dalam penelitian Kim dkk (2016), menunjukkan bahwa katekin mampu meningkatkan meningkatkan aktivitas sel T CD4(+) dan juga meningkatkan aktivitas sitotoksik sel NK in vivo. Peningkatan ekspresi dari sitokin interleukin (IL) salah satunya diduga karena peranan katekin yang mampu mengikat reseptor dari sitokin tertentu. Sitokin adalah molekul pensinyalan seluler yang mengintensifkan respon imun lokal dan sistemik. Sitokin sangat penting untuk stimulasi sel limfosit T dan B, terjadinya peningkatan kadar sitokin tertentu dapat dianggap sebagai peningkatan respons imun (Ding dkk, 2018). Katekin dapat berinteraksi dengan beberapa asam amino dari reseptor interleukin (IL) misalnya pada dua gugus hidroksil dari inti benzopiron (OH pada C-3 dan OH pada C-5) masing-masing berikatan dengan fenilalanin 74(PHE) dan serin 176 (SER). Selain itu pada gugus masing-masing berikatan dengan arginin 179 (ARG) dan arginin182 (ARG).



Gambar 4.6 Interaksi Katekin dengan Asam Amino Reseptor Sitokin

Sumber : (Ganeshpurkar dan Saluja, 2018)

Katekin pada gambir mampu menargetkan 3 reseptor seluler yang berbeda, diantara reseptor yang berikatan dengan katekin adalah *67 kDa laminin receptor* (67LR) yang merupakan reseptor permukaan sel dengan fungsi memediasi aktivitas antikanker. Selain itu katekin juga dapat berikatan dengan reseptor *zeta chain of T cell receptor associated protein kinase 70* (ZAP 70) yang berperan penting dalam aktivasi limfosit T (Kim dkk, 2022). Reseptor ketiga yang mampu berikatan dengan katekin adalah *retinoic acid-inducible gene 1* (RIG-I) yang berperan penting dalam sistem imun bawaan dalam melawan virus (Onomoto dkk, 2021). Senyawa metabolit pada gambir juga memiliki fungsi sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas. Katekin mampu bereaksi dengan radikal bebas untuk mengganggu reaksi berantai radikal bebas, seperti reaksi oksidatif umum dari oksidasi lipid. Mekanisme yang dimiliki oleh katekin yakni dapat menyumbangkan satu elektron gugus OH untuk mengurangi radikal bebas (Onomoto dkk, 2021).



Gambar 4.7 Katekin sebagai antioksidan

Sumber : (Yan dkk, 2017)

Peningkatan respon imun juga dimungkinkan karena efek imunostimulan dari senyawa alkaloid yang terkandung pada ekstrak getah gambir. Menurut penelitian Sholikhah dan Rahayuningsih (2015), mekanisme imunomodulator alkaloid memiliki kesamaan dengan flavonoid yaitu dengan

meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit T. Limfosit T apabila distimulasi oleh antigen akan mengalami aktivasi, kemudian menghasilkan limfokin dan melakukan proliferasi. Berbagai limfokin yang sudah diketahui sebagai hasil dari aktivasi limfosit adalah IFN γ , IL-1, sampai IL-13. Senyawa metabolit lain yang terkandung dalam ekstrak getah gambir adalah saponin. Senyawa aktif saponin merupakan zat aktif yang diduga meningkatkan sistem kekebalan tubuh dengan cara meningkatkan produksi sitokin seperti interleukin dan interferon. Ekstrak getah gambir juga mengandung senyawa tanin yang dapat mempengaruhi aktivitas fisiologi seperti menstimulasi sel fagosit, antitumor, dan antiinfeksi (Pakadang et al, 2015).

Data pada histogram menunjukkan bahwa dosis 200mg/kgBB ekstrak getah gambir mampu meningkatkan jumlah splenosit paling tinggi. Data menunjukkan bahwa pada dosis 200mg/kgBB memberikan efek imunomodulator yang paling tinggi, hal ini diperkuat dengan penelitian Yunia (2009) yang menunjukkan ekstrak katekin gambir dengan dosis 100mg/kgBB dan 200mg/kgBB memberikan efek imunomodulator kuat dengan parameter indeks fagositosis 1,9. Penelitian lain dilakukan oleh Zihadia dkk (2012), yang menyatakan bahwa ekstrak gambir dengan dosis 100mg/kgBB dan 200mg/kgBB dan perpaduan dengan eugenol menunjukkan efek imunomodulator kuat, dengan parameter indeks fagositosis lebih dari 1,5. Senyawa yang memiliki nilai indeks fagositosis >1 digolongkan sebagai senyawa imunostimulan, sedangkan senyawa dengan nilai indeks fagositosis <1 digolongkan sebagai senyawa immunosupresan (Handayani dkk, 2018). Putri (2021) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa ekstrak gambir 200mg/kgBB

dan propolis menghasilkan efek imunomodulator tertinggi yang mampu meningkatkan titer antibodi, jumlah leukosit, dan persentase limfosit mencit.

Sebagai data pendukung, dilakukan penghitungan terhadap berat organ limpa. Hasil dari pengukuran berat organ limpa menunjukkan bahwa pemberian ekstrak getah gambir menyebabkan kenaikan pada rata-rata berat organ limpa mencit jika dibandingkan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif. Berat organ limpa dapat dijadikan indikator untuk melihat respon imun, hal ini dikarenakan berat limpa dapat berubah karena adanya aktivitas imun (Zhao dkk, 2015). Penambahan berat organ limpa sejalan dengan bertambahnya dosis ekstrak getah gambir, yang diduga akibat dari bertambahnya jumlah splenosit. Berubahnya berat organ limpa salah satunya dapat diakibatkan karena proliferasi splenosit limpa, yang mengakibatkan peningkatan volume sel dalam limpa sehingga berat limpa ikut meningkat (Wang dkk, 2014). Kenaikan berat organ limpa dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4. Berat-rata Organ Limpa Mencit

Perlakuan	Berat Organ Limpa				Rata-rata
	1	2	3	4	
Kontrol Negatif	0,101	0,114	0,124	0,118	0,114
Kontrol Positif	0,093	0,122	0,117	0,129	0,115
Dosis ekstrak getah gambir 50mg/kgBB	0,130	0,103	0,121	0,116	0,117
Dosis ekstrak getah gambir 100 mg/kgBB	0,103	0,149	0,114	0,107	0,118
Dosis ekstrak getah gambir 150 mg/kgBB	0,117	0,08*	0,116	0,124	0,119
Dosis ekstrak getah gambir 200 mg/kgBB	0,127	0,131	0,135	0,119	0,128

Keterangan : *data tidak ikut dihitung karena memiliki berat yang terlalu jauh

Berdasarkan data pada penelitian ini menunjukkan bahwa tanaman gambir memiliki kandungan senyawa metabolit dengan berbagai manfaat. Tanaman gambir dengan berbagai manfaat yang dimilikinya merupakan satu dari sekian banyak tanaman atau makhluk ciptaan Allah yang telah diciptakan sebagai bukti kebesaran dan kasih sayang Allah SWT terhadap manusia. Oleh karenanya manusia diperintahkan untuk mencari tau dan memperhatikan terhadap ciptaan-ciptaan Allah yakni dalam hal ini tumbuhan, untuk meneliti dan mempelajarinya agar diketahui manfaatnya. Allah Subhanahu wa Ta'ala berfirman dalam surat Asy-Syu'ara (26) ayat 7 yaitu:

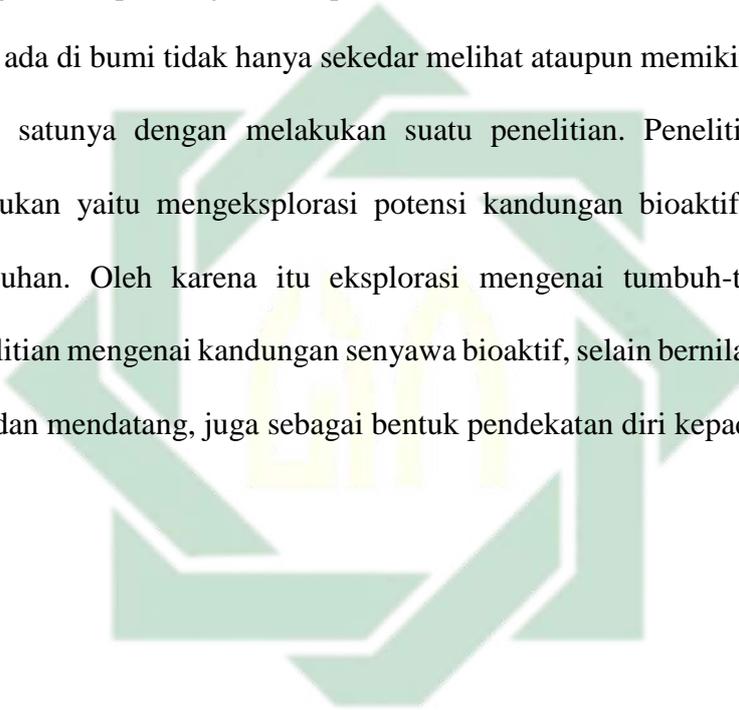
أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan terhadap bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di dalamnya (bumi itu) berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Q.S. Asy-Syu'ara (26): 7).

Lafadz يَرَوْا dalam surat Asy-Syu'ara ayat 7 diatas berarti “memperhatikan” yang bermakna apakah manusia tidak memikirkan bahwa Allah SWT yang menciptakan الْأَرْضِ yang berarti “bumi” dengan isinya sebagai tanda-tanda kebesaran Allah SWT. Dalam surat Asy-Syu'ara ayat 7 menunjukkan bahwa anugrah dan kebesaran Allah SWT terdapat pada lafadz زَوْجٍ كَرِيمٍ yang memiliki makna “ditumbuhkannya tumbuh-tumbuhan yang baik”. Dalam tafsir oleh Qurthubi, kata كَرِيمٍ artinya baik dan mulia, berasal dari kata al karam dalam bahasa arab al-fadhl yaitu keutamaan, serta kariimun yang artinya mulia dan unggul.

Berdasarkan penjelasan tersebut Allah SWT menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang dapat diambil manfaatnya oleh manusia. Oleh karena

itu, dalam ayat ini manusia diperintahkan Allah Subhanahu wa Ta'ala untuk memperhatikan serta memikirkan pada ciptaan-Nya, salah satunya adalah tumbuh-tumbuhan, sehingga apabila manusia memikirkan kepada tanda kekuasaan Allah, hal tersebut dapat dijadikan media pembelajaran mendekatkan diri kepada Allah Subhanahu wa Ta'ala dan meningkatkan keimanan dan ketaqwaan kepada-Nya. Memperhatikan kuasa Allah Subhanahu wa Ta'ala yang ada di bumi tidak hanya sekedar melihat ataupun memikirkan saja, tetapi salah satunya dengan melakukan suatu penelitian. Penelitian yang dapat dilakukan yaitu mengeksplorasi potensi kandungan bioaktif pada tumbuh-tumbuhan. Oleh karena itu eksplorasi mengenai tumbuh-tumbuhan serta penelitian mengenai kandungan senyawa bioaktif, selain bernilai tinggi di masa kini dan mendatang, juga sebagai bentuk pendekatan diri kepada Allah SWT.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB V

KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang uji aktivitas imunomodulator ekstrak getah gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) terhadap mencit yang diinduksi sodium benzoat, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak getah gambir memberikan pengaruh signifikan terhadap kenaikan jumlah splenosit mencit pada dosis 100mg/kgBB, 150mg/kgBB, 200mg/kgBB dengan persentase kenaikan berturut turut 64%, 71%, 72,6% terhadap kontrol negatif dan 42,3%, 48,4%, 49,7% terhadap kelompok kontrol positif.
2. Belum ditemukan dosis optimal ekstrak getah gambir dalam meningkatkan jumlah splenosit, dikarenakan grafik pada histogram terus mengalami kenaikan pada dosis 200mg/kgBB dengan persentase kenaikan jumlah splenosit 72% terhadap kontrol negatif dan 49,7% terhadap kontrol positif.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya, yaitu:

1. Peneliti perlu melakukan studi lebih lanjut terkait kandungan senyawa aktif katekin pada tanaman gambir yang berpotensi sebagai imunomodulator.
2. Peneliti perlu melakukan uji lebih lanjut dengan penambahan rentang dosis hingga ditemukan dosis optimal dalam meningkatkan jumlah splenosit.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, M., & Ariyanti, P. R. (2016). Manfaat Gambir (*Uncaria Gambir Roxb*) Sebagai Antioksidan. *Jurnal Majority*, 5(3), 129-133.
- Adliyani, Z. O. N. (2015). Pengaruh Perilaku Individu Terhadap Hidup Sehat. *Jurnal Majority*, 4(7), 109-114.
- Adelina, R. Dkk. 2013. Perebusan dan penumisan menurunkan kandungan beta karoten dan wortel. Vol.1, No. 3, pp.164-68.
- Adhiksana, A. (2017). Perbandingan metode konvensional ekstraksi pektin dari kulit buah pisang dengan metode ultrasonik. *Journal of Research and Technology*, 3(2), 80-87.
- Adrian F. G, Adeline Pierre, and Silvia Maggini. "A review of micronutrients and the immune System–Working in harmony to reduce the risk of infection." *Nutrients* 12.1 (2020): 236.
- Alfitasari, D. A., Kusuma, A. M., & Hakim, Z. R. (2017). Aktivitas Immunodulator Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (*Allium Cepa L.*) Terhadap Respon Imun Non Spesifik Pada Mencit Jantan Galur Balb/C Dengan Metode Carbon Clearance. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera: A Scientific Journal*, 34(2), 75-79.
- Anand, A., Patience, A. A., Sharma, N., Khurana, N. (2017). The present and future of pharmacotherapy of Alzheimer's disease: a comprehensive review. *Eur. J. Pharmacol.* 815, 364–375. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.09.043
- Alquraisi, R. H. A., & Oktariani, O. L. (2021). A Literature Review: Aktivitas Immunomodulator Vitamin C. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (Pmj)*, 4(1), 105-110.
- Anggraini, T., Tai, A., Yoshino, T., & Itani, T. (2011). Antioxidative activity and catechin content of four kinds of *Uncaria gambir* extracts from West Sumatra, Indonesia. *African Journal of Biochemistry Research*, 5(1), 33-38.
- Anjarsari, I. R. D. (2016). Katekin teh Indonesia: prospek dan manfaatnya. *Kultivasi*, 15(2).
- Arrington Lr. 1972. *Introduction To Laboratory Animal Science: The Breeding, Care And Management Of Experimental Animals*. Danville (Us): The Interstate Printers And Publishers Inc.
- Bahi, M., Jacob, C., & Khairan, K. (2016). Efek Sitotoksik Haarlem Oil Terhadap HL-60 Cell Line Dan *Steinermia Felidae*. *Jurnal Kedokteran Hewan*, Vol, 10(2), 109-114.

- Bégay, V., Cirovic, B., Barker, A. J., Klopffleisch, R., Hart, D. W., Bennett, N. C., & Lewin, G. R. (2022). Immune Competence And Spleen Size Scale With Colony Status In The Naked Mole-Rat. *Open Biology*, 12(4), 210292.
- Berrington J. E., Barge D., Fenton A. C., Cant A. J., Spickett G. P. (2005). Lymphocyte subsets in term and significantly preterm UK infants in the first year of life analysed by single platform flow cytometry. *Clin. Exp. Immunol.* 140, 289–292 10.1111/j.1365-2249.2005.02767.x
- Buana, I., & Harahap, D. A. (2022). Asbestos, Radon Dan Polusi Udara Sebagai Faktor Resiko Kanker Paru Pada Perempuan Bukan Perokok. *Averrous: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Malikussaleh*, 8(1), 1-16.
- Budianto, B. A., Yudhanto, E., & Ariosta, A. (2019). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun *Annona muricata* Terhadap Kadar Malondialdehyde (Mda) Darah Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi 7, 12 Dimethylbenz [A] Anthracene. *Diponegoro Medical Journal (Jurnal Kedokteran Diponegoro)*, 8(1), 61-68.
- Chan, L. L. Y., Rice, W. L., & Qiu, J. (2020). Observation And Quantification Of The Morphological Effect Of Trypan Blue Rupturing Dead Or Dying Cells. *Plos One*, 15(1), E0227950.
- Chowdhury, P., & Barooah, A. K. (2020). Tea bioactive modulate innate immunity: In perception to COVID-19 pandemic. *Frontiers in Immunology*, 11, 590716.
- Dar HY, Shivani C, Karishma S, Azam Z, Anupam R, Dkk (2017) Immunomodulatory Effects Of Food Additives. *Int J Immunother Cancer Res* 3(1): 019-031.
- Darmawan, R. (2014). Uji Aktivitas Antiplasmodium Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens*) Terhadap Mencit Jantan (*Mus musculus*) Serta Implementasinya Sebagai Lks Pada Materi Protista (Skripsi, Universitas Bengkulu).
- Delavar, M., Araghi, R.A., Kazemifar, A.M., Abdollah, M., & Ansari, B., (2012). Determination of Benzoate Level in Canned Pickles and Pickled Cucumbers in Food Producing Factories in Markazi Province and those that their Products were Sold in Arak City, *Iranian Journal of Toxicology*, 6 (18): 686 690.
- Devagaran, T. (2012). Senyawa Immunomodulator Dari Tanaman. *Students E Journal*, 1(1), 40.

- Dewi, M. M. (2012). Formulasi Sediaan Tablet Hisap Katekin Gambir (*Uncaria Gambir Roxb*) Sebagai Imunomodulator Dengan Metode Granulasi Basah. Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Dibisono, M. Y., Nadhira, A., Wijaya, H., & Sitorus, R. (2021). Uji Potensi Ekstrak Daun Gambir (*Uncaria Gambir Roxb*) Untuk Mengendalikan Hama Ulat Kantong (*Metisa Plana*). *Jurnal Al Ulum Lppm Universitas Al Washliyah Medan*, 9(1), 8-14.
- Ding, S., Jiang, H., & Fang, J. (2018). Regulation of immune function by polyphenols. *Journal of immunology research*, 2018.
- Ebrahim, F. O., Abolayha, A. M., Elzagheid, A. A., & Abosrer, F. (2020). Isolation Of Primary Mice Splenocytes For In Vitro Research. *Alexandria Journal For Veterinary Sciences*, 64(2).
- Ergina, E., Nuryanti, S., & Pursitasari, I. D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave Angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 165-172.
- Ernawati, F. (2013). Peran Beberapa Zat Gizi Mikro Dalam Sistem Imunitas. *Gizi Indonesia*, 36(1).
- Faradilla, M., & Iwo, M. I. (2014). Efek Imunomodulator Polisakarida Rimpang Temu Putih [*Curcuma Zedoaria (Christm.) Roscoe*]. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12(2), 273-278.
- Fithria, R. F., Wulandari, R. L., Hidayati, D. N., & Rejeki, L. (2018). Toksisitas Akut Infusa Kulit Ari Kacang Tanah (*Arachis Hypogea L.*) Pada Mencit Balb/C. *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 15(2), 62-70.
- Frinanda, D., Efrizal Dan R. Rahayu. 2014. Efektivitas Gambir (*Uncaria Gambir Roxb.*) Sebagai Anti Hiperkolesterolemia Dan Stabilisator Nilai Darah Pada Mencit Putih (*Mus Musculus*) Jantan. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 3(3): 231-237.
- Ganeshpurkar, A., & Saluja, A. (2018). In silico interaction of catechin with some immunomodulatory targets: A docking analysis.
- Gitawati, R., Widowati, L., Mutiatikum, D., Sampurno, O. D., Raini, M., & Isnawati, A. (2012). Karakterisasi Tiga Jenis Ekstrak Gambir (*Uncaria Gambir Roxb*) Dari Sumatera Barat. *Indonesian Bulletin Of Health Research*, 40(4), 20663.
- Gibbs, J., Elle, E., Bobiwash, K., Haapalainen, T., & Isaacs, R. (2016). Contrasting pollinators and pollination in native and non-native regions of highbush blueberry production. *PloS one*, 11(7), e0158937.

- Goni, Lr., Wongkar, D. Dan Wangko, S. 2017. Gambaran Makroskopik Dan Mikroskopik Limpa Pada Hewan Coba Postmortem. *Jurnal E-Biomedik*. 5(1): 1-6.
- Griana, T. P. (2019). Potential Effect Of Pegagan (*Centella Asiatica* (L.) Urban) And Widuri (*Calotropis Gigantea* (L.)) As Immunomodulator. *Journal Of Food And Pharmaceutical Sciences*, 7(2), 55-72.
- Hadi, A. (2020). Konsep Dan Praktek Kesehatan Berbasis Ajaran Islam. Al Risalah: *Jurnal Studi Agama Dan Pemikiran Islam*, 11(2), 53-70.
- Hanum, S., Budiman, H. Dan Masyitha, D. 2017. Gambaran Histologis Limpa Ayam Kampung (*Gallus Gallus Domesticus*) Pada Umur Berbeda. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*. 01(3): 552-557.
- Haryanto, S. 2009. *Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia*. Yogyakarta: Palmall. 562 Hal.
- Hasanah, U., & Masri, M. (2015). Analisis Pertumbuhan Mencit (*Mus Musculus* L.) Icr Dari Hasil Perkawinan Inbreeding Dengan Pemberian Pakan Ad1 Dan Ad2. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi* (Vol. 1, No. 1).
- Helmi, A. 2015. Analisis Usahatani Gambir Di Desa Tanjung Kecamatan Koto Kampar Hulu Kabupaten Kampar. *Jurnal JOM Fekon*, 2(2): 1-11.
- Hera, N., Aprelia, R., & Aminuddin, A. T. (2020). Eksplorasi Dan Karakteristik Morfologi Tanaman Gambir Liar (*Uncaria Gambir Roxb.*) Pada Lahan Gambut Dataran Rendah Di Kota Pekanbaru. *Menara Ilmu*, 14(2).
- Herrmann K, Pistollato F, Stephens MI. 2019. Beyond The 3rs: Expanding The Use Of Humanrelevant Replacement Methods In Biomedical Research. *Altex*, 36(3): 343-352.
- Hidayati, E., Berata, I. K., Samsuri., Merdana, I. M., Sudimartini L. M. (2018). Gambaran Histopatologi Limpa Tikus Putih Yang Diberi Deksametason Dan Vitamin E. *Buletin Veteriner Udayana* Volume, 10(1), 18-25.
- Hilda, N. (2015). Pengaruh pengawet benzoat terhadap kerusakan ginjal. *Jurnal Keluarga Sehat Sejahtera*, 13(2).
- Hilmi, H. L., & Rahayu, D. (2018). Aktivitas Farmakologi Gambir (*Uncaria Gambir Roxb.*). *Farmaka*, 16(2), 134–141.
- D., K W, A., & N K, W. (2013). Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L .). *Jurnal Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana*, 2(4), 1–6.

- I.G.N.I.P, J., N.P.E, L., & I.N.K, W. (2012). Jurnal Farmasi Udayana. Jurnal Farmasi Udayana, V(1), 86–101.
- Intan PR, Winarno MW, Prihartini N. 2017. Efek ekstrak campuran kulit batang pulai (*Alstonia scholaris*) dan meniran (*Phyllanthus niruri*) pada mencit Swiss Webster yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Jurnal Kefarmasian Indonesia. 6(2). doi: 10.22435/JKI.V6I2.6229.79-88.
- Irianty, R. S. (2013). Ekstraksi Daun Gambir Menggunakan Pelarut Metanol-Air Sebagai Inhibitor Korosi. Jurnal Teknobiologi, 4(01), 7-13.
- Irianty, R. S., & Komalasari, D. (2013). Ekstraksi Daun Gambir Menggunakan Pelarut Metanol-Air Sebagai Inhibitor Korosi. Jurnal Teknobiologi, IV, 1, 7–13.
- Isnawati Ani, Raini Mariana, Dwi, S. O., D, M., Lucie, W., & Gitawati Retno. (2012). Characterication Of 3 Types Gambir Extract ((*Uncaria Gambir* Roxb). Bul. Penelit. Kesehat, 40(4), 201–208. Isolation Of Catechins From Tea. Journal Of Separation Science. 33(21):3415-3428.
- Isromarina, R., Rosa, E., & Rusli, D. (2019). AKTIVITAS ANBAKTERI EKSTRAK DAUN GAMBIR (*Uncaria Gambir* (Hunter) Roxb) TERHADAP BAKTERI *Vibrio Cholerae* ATCC 14033. Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi, 2019, 4(1), 21–26.
- Jafar, W., Masriany, & Sukmawaty, E. (2020). Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Bunga Pohon Hujan (*Spathodea Campanulata*) Secara In Vitro. Prosiding Seminar Nasional Biotik, 8(2019), 328–334.
- Jafet, N. (2023). *Pengaruh asam 2-(3-(klorometil) benzoiloksi) benzoat terhadap rasio limfosit-T CD3CD4 dan CD3CD8 pada limpa mencit Swiss webster metode fluorescence-activated cell sorting (FACS)* (Doctoral dissertation, Widya Mandala Surabaya Catholic University).
- Jamsari, Ari. (2007). Phenology of flower and fruit development in *Uncaria gambir* Species. Biodiversitas, Journal of Biological Diversity. 8. 141-146. 10.13057/biodiv/d080214.
- Janeiro, P., And Brett, A.M.O. 2004. Catechin Electrochemical Oxidation Catechin Content Of Four Kinds Of *Uncaria Gambir* Extracts From West. Mechanisms. Analytica Chimica Acta. 518(1-2):109-115.
- Jaya, IGNIP., Leliqia, N. P. E., & Widjaja, I. N. K. (2008). Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Dpph Ekstrak Produk Teh Hitam (*Camellia Sinensis* (L.) OK) Dan Gambir (*Uncaria Gambir* (Hunter) Roxb) Serta Profil KLT Densitometernya. Jurnal Farmasi Udayana, 1(1), 279725.

- Kasim, A., A. Asben Dan S. Mutiar. 2015. Kajian Kualitas Gambir Dan Hubungannya Dengan Karakteristik Kulit Tersamak. *Majalah Kulit, Karet, Dan Plastik*, 31(1): 55-64.
- Handayani, S., Najib, A., & Wati, N. P. (2018). Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun daruju (*Acanthus Illicifolius* L.) dengan metode peredaman radikal bebas 1, 1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil (Dpph). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(2), 299-308.
- Herrmann, K., Pistollato, F., & Stephens, M. L. (2019). Beyond the 3Rs: Expanding the use of human-relevant replacement methods in biomedical research. *ALTEX-Alternatives to animal experimentation*, 36(3), 343-352.
- Khairinal. (2012). Efek Kurkumin Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Dari Limpa Mencit C3H Bertumor Payudara Secara In Vitro. Tesis. Universitas Indonesia Depok.
- Kierszenbaum, Al. Dan Tres, Ll. 2020. *Histology And Cell Biology An Introduction To Pathology*. Canada : Elsevier.
- Kim, Y. H., Won, Y. S., Yang, X., Kumazoe, M., Yamashita, S., Hara, A., ... & Tachibana, H. (2016). Green tea catechin metabolites exert immunoregulatory effects on CD4+ T cell and natural killer cell activities. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(18), 3591-3597.
- Kiswandono, A. A. (2017). Skrining Senyawa Kimia Dan Pengaruh Metode Maserasi Dan Refluks Pada Biji Kelor (*Moringa Oleifera*, Lamk) Terhadap Rendemen Ekstrak Yang Dihasilkan. *Jurnal Sains Natural*, 1(2), 126. <https://doi.org/10.31938/jsn.v1i2.21>
- Kristina, N. I. L. L. A., Lestari, J. A. N. N. A. T. I., & Fauza, H. A. M. D. A. (2019). Keragaman Morfologi Dan Kadar Katekin Tanaman Gambir Berdaun Merah Yang Tersebar Pada Berbagai Ketinggian Tempat Di Sumatera Barat. In *Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, Pp. 43 (Vol. 48).
- Kristina, N., Lestari, J., & Fauza, H. (2016, August). Morphological Diversity And Catechin Levels Of Red-Leafy Gambier Distributed In Various Altitudes In West Sumatra. In *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* (Vol. 2, No. 1, Pp. 43-48).
- Kondororik, F., Martosupono, M., & Susanto, A. B. (2017). Peranan β karotendalam Sistem Imun untuk Mencegah Kanker. *Jurnal Biologi & Pembelajarannya*, 4(1), 1-8.
- Kuo, C. L., Chen, T. S., Liou, S. Y., & Hsieh, C. C. (2014). Immunomodulatory Effects Of Egg Fraction Of Green Tea Extract In Innate And Adaptive

Immunity Via T Regulatory Cells In Murinemodel Immunopharmacology And Immunotoxicology, 36(5), 364-370.

- Kurniawan, R. T. (2020). *Identifikasi Dan Karakterisasi Morfologi Gambir Liar (Uncaria Gambir (Hunter) Roxb.) Di Kota Pekanbaru* (Doctoral Dissertation, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau).
- Lawrenti, H. (2018). Perkembangan Imunoterapi Untuk Kanker. *Cermin Dunia Kedokteran*, 45(8), 616-622.
- Lee, E. W., Shin, J. H., Ko, H. K., Park, J., Kim, S. H., & Sung, K. B. (2014). Lymphangiography to treat postoperative lymphatic leakage: a technical review. *Korean journal of radiology*, 15(6), 724-732.
- Lumbessy, M., Abidjulu, J., & Paendong, J. J. E. (2013). Uji Total Flavonoid Pada Beberapa Tanaman Obat Tradisional Di Desa Waitina Kecamatan Mangoli Timur Kabupaten Kepulauan Sula Provinsi Maluku Utara. *Jurnal MIPA*, 2(1), 50. <https://doi.org/10.35799/Jm.2.1.2013.766>
- Mahendra, I., & Azhar, M. (2022). Ekstraksi dan Karakterisasi Katekin Dari Gambir (*Uncaria Gambir Roxb.*). *Periodic*, 11(1), 5-7.
- Maier, E., Kurz, K., Jenny, M., Schennach, H., Ueberall, F., & Fuchs, D. (2010). Food Preservatives Sodium Benzoate And Propionic Acid And Colorant Curcumin Suppress Th1-Type Immune Response In Vitro. *Food And Chemical Toxicology*, 48(7), 1950-1956.
- Maidah. 2015. Analisis Kualitatif Dan Kuantitatif Natrium Benzoat, Boraks Dan Formalin Dalam Berbagai Makanan Olahan Yang Terdapat Di Lingkungan Sekolah Dasar Kecamatan Tamalanrea Kota Makassar. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Marlinda, M. (2019). Identifikasi Kadar Katekin Pada Gambir (*Uncaria Gambier Roxb.*). *Jurnal Optimalisasi*, 4(1), 47-53.
- Matheos, C., Lintong, P. Dan Kairupan, C. 2013. Gambaran Histologik Jaringan Limpa Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinfeksi *Eschericia Coli* Dan Diberi Madu. *Jurnal E- Biomedik*. 1(2): 961-965.
- Maynard, R. L., & Downes, N. (2019). *Anatomy and histology of the laboratory rat in toxicology and biomedical research*. Academic Press.
- Melati, M., & Parbuntari, H. (2022). Screening Fitokimia Awal (Analisis Qualitative) Pada Daun Gambir (*Uncaria Gambir Roxb*) Asal Siguntur Muda. *Periodic*, 11(3), 88-92.

- Mustikasari, D., Kurniawan, A., & Rakhmawati, P. (2021). Penysadaran Masyarakat Akademik tentang Peranan Herbal dalam Peningkatan Sistem Imun. *Abdimasku: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 4(3), 285-291.
- Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., & Lesmana, R. (2021). Kajian Pustaka: Penggunaan Mencit Sebagai Hewan Coba Di Laboratorium Yang Mengacu Pada Prinsip Kesejahteraan Hewan. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*, 10(1): 134-145.
- Ningsih, E., & Rahayuningsih, S. (2019). Extraction, Isolation, Characterisation And Antioxidant Activity Assay Of Catechin Gambir (*Uncaria Gambir* (Hunter). *Roxb. Al-Kimia*, 7(2), 177-188.
- Nowicka, W., Ł. J., & Herbet, M. (2022). Sodium Benzoate—Harmfulness And Potential Use In Therapies For Disorders Related To The Nervous System: A Review. *Nutrients*, 14(7), 1497.
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). SKRINING FITOKIMIA DARI EKSTRAK BUAH BUNCIS (*Phaseolus Vulgaris* L) DALAM SEDIAAN SERBUK. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 2(1). <https://doi.org/10.29303/jppipa.v2i1.38>
- Nugroho, H. F. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus Altilis*) Terhadap Fertilitas Mencit (*Mus Musculus*) Jantan (Doctoral Dissertation, Uin Raden Intan Lampung).
- Nur, S. (2020). Identifikasi Dan Penentuan Kadar Katekin Dari Seduhan Dan Ekstrak Etanol Produk Teh Hijau (*Camelia Sinensi* L) Komersial Secara Spektrofotometri Uv-Visible. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 24(1), 1-4.
- Nurhayati, Siadi, K., dan Harjono, 2012, Pengaruh Konsentrasi Natrium Benzoat Dan Lama Penyimpanan Pada Kadar Fenolat Total Pasta Tomat, *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 1 (2), 159-162.
- Nurhidayah, A. (2012). Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Air Kombinasi Daun Sirih (*Piper Betle*) Dan Gambir (*Uncaria Gambir* Hnuter) Roxb) Dengan Pengukuran Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Serta Pengaruhnya Terhadap Perubahan Kadar Enzim Asam Fosfatase Pada Sel Makrofag Peritonium Mancet Secara In Vivo. Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Oktavia, F. D., & Sutoyo, S. (2021). Skrining Fitokimia, Kandungan Flavonoid Total, Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan *Selaginella Doederleini*. *Jurnal Kimia Riset*, 6(2), 141-153.

- Onomoto, K., Onoguchi, K., & Yoneyama, M. (2021). Regulation of RIG-I-like receptor-mediated signaling: interaction between host and viral factors. *Cellular & molecular immunology*, 18(3), 539-555.
- Pakadang, S.R; Wahyuni, C.U; Notobroto, H.B; Winarni, D; Dwiyanti, R; Yadi; Sabir, M; Hatta, M. Immunomodulator Potential Of Miana Leaves (*Coleus Scutellarioides* (L) Benth) In Prevention Of Tuberculosis Infection. *American Journal of Microbiological Research*. Universitas Hasanuddin: Makasar. 2015, 129-134
- Parbuntari, H. (2022). Screening Fitokimia Awal (Analisis Qualitative) Pada Daun Gambir (*Uncaria Gambir Roxb*) Asal Siguntur Muda. 11(3), 88–92.
- Pastoriza, S., Mesías, M., Cabrera, C., & Rufián-Henares, J. A. (2017). Healthy properties of green and white teas: an update. *Food & function*, 8(8), 2650-2662.
- Perdana, P. G. R. W. (2022). Aktivitas Immunomodulator Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Jurnal Farmagazine*, 9(1), 50-54.
- Permana, I. S., & Sumaryana, Y. (2018). Sistem Pakar Untuk Mendiagnosa Penyakit Kulit Dengan Metode Forward Chaining. *Jurnal Manajemen Dan Teknik Informatika (Jumantaka)*, 1(1).
- Pitriyah, P. 2016. *Uji Aktivitas isolat Katekin Gambir (Uncaria gambir Roxb) Terhadap Udem Kaki Tikus Putih Galur Sprague-Dawley Yang di Induksi Karagenan* (Bachelor's thesis).
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., ... & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms And Benefits For Human Health. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2017.
- Putri, A. (2021). *Peforma Katekin (Uncaria Gambir Roxb.) Dan Propolis Pada Mencit Dalam Titer Antibodi Dengan Vaksin H5N1* (Doctoral Dissertation, Universitas Andalas).
- Qarni, U., & Rifa'i, M. (2013). Uji Aktifitas Biologis Fraksi Ethanol Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) Terhadap Perubahan Kuantitatif Sel T Regulator Pada Mencit BALB/C (Mus Musculus). *Biotropika: Journal Of Tropical Biology*, 1(5), 201-205.
- Rahayu, R. P., Prasetyo, R. A., Purwanto, D. A., Kresnoadi, U., Iskandar, R. P., & Rubianto, M. (2018). The Immunomodulatory Effect Of Green Tea (*Camellia Sinensis*) Leaves Extract On Immunocompromised Wistar Rats Infected By *Candida Albicans*. *Veterinary World*, 11(6), 765.

- Rahmawati, U., E. Suryani, A. Mukhlisan. 2012. Pengembangan Repository Pengetahuan Berbasis Ontologi (Ontology-Driven Knowledge Repository) Untuk Tanaman Obat Indonesia. *Jurnal Teknik Pomits*. 1(1):1-6
- Ranailla, R., Mardhiyah, Ai., & Hidayati, N. O. (2017). Dampak Kemoterapi Pada Anak Penderita Kanker Di Rumah Cinta Bandung. *Jurnal Keperawatan'aisyiyah*, 4(2), 41-53.
- Rauf, A., & Siregar, A. Z. (2015). The Condition Of Uncaria Gambir Roxb. As One Of Important Medicinal Plants In North Sumatra Indonesia. *Procedia Chemistry*, 14, 3-10.
- Riswanto, D., & Setiawan, U. (2022). Minuman Probiotik Kombucha Dengan Ekstrak Daun Teh Hijau Sebagai Herbal Alternatif Untuk Meningkatkan Sistem Kekebalan Imun Tubuh. *Jurnal Lentera: Kajian Keagamaan, Keilmuan Dan Teknologi*, 21(2), 200-208.
- Rosalinda, L. (2021). *Manfaat Gambir Untuk Kecantikan Kulit Wajah*. Buku, 1 128.
- Rosdiana, A., & Hadisaputri, Y. E. (2016). Review Artikel: Studi Pustaka Tentang Prosedur Kultur Sel. *Farmaka*, 14(1), 236–249.
- Rousdy, DW. Dan Wardoyo, ERP. 2018. Histologi Limpa Dan Hematologi Mencit Yang Diinfeksi Escherichia Coli Setelah Pemberian Asam Humat Gambut Kalimantan. *Jurnal Bioteknologi Dan Biosains Indonesia*. 5(2): 168-176.
- Ruberte, J., Carretero, A., & Navarro, M. (2017). *Morphological Mouse Phenotyping: Anatomy, Histology And Imaging*. Elsevier.
- Rubiana, I., Mulyana, F. R., Herliana, M. N., & Soraya, N. (2021). Meningkatkan imunitas tubuh melalui senam umum ditengah Pandemi Covid 19. *ABDIMAS: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 4(1), 529-536.
- Runtukahu, A. T., Marunduh, S. R., & Polii, H. (2021). Peran Imunitas Seluler Pada Ibu Hamil. *Ebiomedik*, 9(2).
- Sa'adah, N., Langitasari, I., & Wijayanti, I. E. (2020). Implementasi Pendekatan Science Writing Heuristic Pada Laporan Praktikum Berbasis Multiple Representasi Terhadap Kemampuan Interpretasi. *Jurnal Inovasi Pendidikan IPA*, 6(2), 195-208.
- Sa'id, E. G., Syamsu, K., Mardiyati, E., Herryandie, A., Evalia, N. A., rahayu, D. L., Puspitarini, A. A. A. R., Ahyarudin, A., Hadiwijoyo, A. 2009. *Buku. Agroindustri Bisnis Gambir Indonesia*.
- Sabarni, S. (2015). Teknik Pembuatan Gambir (Uncaria Gambir Roxb) Secara Tradisional. *Elkawanie: Journal Of Islamic Science And Technology*, 1(1), 105-112.

- Saputra, R. 2017. Pengembangan Sumber Daya Lokal Di Kabupaten Lima Puluh Sumatera, Indonesia. *Afr Jbiochemres*. 5:33-38.
- Sari, A. N. (2015). Antioksidan Alternatif Untuk Menangkal Bahaya Radikal Bebas Pada Kulit. *Elkawnie: Journal Of Islamic Science And Technology*, 1(1), 63-68.
- Sari, E. J. (2016). Struktur Tulang Belakang Fetus Mencit (Mus Musculus L.) Setelah Pemberian Ekstrak Rimpang Teki (Cyperus Rotundus L.) (Skripsi, Universitas Lampung).
- Septiana, E., Umaroh, A., Gangga, E., & Simanjuntak, P. (2017). Haem Polymerization Inhibitory Activity Of Blumea Balsamifera Leaves Extract As Antimalarial. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat/Bulletin Of Research On Spice And Medicinal Crops*, 28(1), 29-36.
- Setiawan, S. D. (2015). The Effect Of Chemotherapy In Cancer Patient To Anxiety. *Jurnal Majority*, 4(4).
- Shofiyah. (2022). Imunitas Tubuh Dalam Al-Qur'an (Studi Tafsir Al-Maraghi Karya Ahmad Musthafa Al Maraghi). Skripsi. Universitas Islam Negeri Kiai Haji Achmad Siddiq Jember.
- Sholikhah, A.R., Rahayuningsih, H.M. (2015). Pengaruh Ekstrak Lompong (*Colocasia esculenta* L. Schoot) 30 Menit Pengukusan Terhadap Aktivitas Fagositosis dan Kadar No (Nitrit Oksida) Mencit Balb/C Sebelum Dan Sesudah Terinfeksi *Listeria Monocytogenes* *Journal of Nutrition College*, 4(2), 526–569.
- Siswanto, F, Budisetyawati., dan Ernawati, “Peran Beberapa Zat Gizi Mikro Dalam Sistem Imunitas,” 2013.
- Sitorus, S. (2013). Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol *Angiopteris Angustifolia* C. Presl Terhadap Kultur Sel Kanker Payudara (Mcf-7 Cell Line) Secara In Vitro.
- Suardana, I. B. K. (2017). Diktat Imunologi Dasar Sistem Imun. Universitas Udayana, Denpasar.
- Sudaryat, Y., Kusmiyati, M., Pelangi, C. R., Rustamsyah, A., & Rohdiana, D. (2015). Aktivitas antioksidan seduhan sepuluh jenis mutu teh hitam (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) Indonesia. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*, 18(2), 95-100.
- Sukaesih, D. A. (2022). *Karakterisasi Senyawa Katekin Dari Daun Teh Hijau (Camellia Sinensis (L.) Kuntze) Dan Uji Aktivitas Antibakteri* (Doctoral Dissertation, Universitas Islam Indonesia).

- Sukmayadi, A. E., S. A. Sumiwi, M. L. Barliana, dan A. D. Aryanti. 2014. Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn.). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1: 65-72.
- Suleman, I. F., Sulistijowati, R., Manteu, S. H., & Nento, W. R. (2022). Identifikasi Senyawa Saponin Dan Antioksidan Ekstrak Daun Lamun (*Thalassia Hemprichii*). *Jambura Fish Processing Journal*, 4(2), 94-102.
- Sulistiarini, S., dan Hargono, R. (2018). Hubungan Perilaku Hidup Sehat Dengan Status Kesehatan Pada Masyarakat Kelurahan Ujung. *Jurnal Promkes*, 6(1), 12 - 22.
- Tafrihani, A. S., Gono, C. M. P., Natasia, N., & Ikawati, M. (2021). Potensi Biji Duwet (*Syzygium Cumini* (L.)(Skeels.)) Sebagai Imunomodulator Pendamping Kemoterapi: Sebuah Ulasan. *J Pharm Sci*, 2, 217.
- Tahir, M., Nardin, N., & S, J. (2019). Identifikasi Pengawet Dan Pewarna Berbahaya Pada Bumbu Giling Yang Diperjualbelikan Di Pasar Daya Makassar. *Jurnal Media Laboran*, 9(1), 21-28.
- Tambun, R., Limbong, H. P., Pinem, C., & Manurung, E. (2016). Pengaruh Ukuran Partikel, Waktu Dan Suhu Pada Ekstraksi Fenol Dari Lengkuas Merah. *Jurnal Teknik Kimia Usu*, 5(4), 53-56.
- Tavita, G. E., Ashari, A. M., Apindiati, R. K., Hartanti, L., & Linda, R. (2022). Pengujian Aktivitas Antibakteri Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Cakar Gambir (*Uncaria Gambir*) Secara In Vitro. *SIMBIOSA*, 11(2), 128-134.
- Thaib, C. M., Sinaga, T. R., & Manurung, K. (2021). Formulasi Krim Ekstrak Daun Gambir (*Uncaria Gambir* Roxb.) Sebagai Penyembuh Luka Bakar. *Jurnal Farmanesia*, 8(1), 76-82.
- Thorpe, Jf., Whiteley, Ma. 1921. *Thorpe's Dictionary Of Applied Chemistry*. Fourth Edition, Vol. Ii. Longmans, Green And Co. London, 434-438.
- Udarno, L. Dan R.T. Setiyono. 2013. Biologi Bunga Dua Varietas Gambir (*Uncaria Gambir* Hunter Roxb) Di Kebun Pakuwon. *Jurnal Sirinov* 1(2): 83 –88.
- Utami, P., Novi, W., Nina, W., Devi, D., Agung, S., Tinton, D.P., Hadi, I., Lukito, A.M., Ug't, Dan S. Iwan. 2008., *Buku Pintar Tanaman Obat 431 Jenis Tanaman Penggempur Aneka Penyakit*, Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.
- Vuong, Q.V., Golding, J.B., Nguyen, M., And Roach, P.D. 2010. Extraction And
- Wahyuni, W. (2019). Implementasi Undang-Undang Nomor 36 Tahun 2014 Tentang Tenaga Kesehatan Dalam Pemberian Pelayanan Pada Pasien Di

Puskesmas Bajoe Kecamatan Tanete Riattang Timur Kabupaten Bone.
Jurnal Al-Dustur, 2(1).

- Wang, J. J., Qiu, L., Fernandez, R., Yeap, X. Y., Lin, C. X., & Zhang, Z. J. (2019). A Mouse Model Of Vascularized Heterotopic Spleen Transplantation For Studying Spleen Cell Biology And Transplant Immunity. *Jove (Journal Of Visualized Experiments)*, (148), E59616.
- Wardhani, R. A. P., & Supartono, S. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium Lappaceum L.*) Pada Bakteri. *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 4(1).
- Wijaya, H., & Jubaidah, S. (2022). Perbandingan Metode Esktraksi Maserasi Dan Sokhletasi Terhadap Rendemen Ekstrak Batang Turi (*Sesbania Grandiflora L.*). *Indonesian Journal Of Pharmacy And Natural Product*, 05(01), 1–11. [Http://Jurnal.Unw.Ac.Id/Index.Php/Ijpn](http://Jurnal.Unw.Ac.Id/Index.Php/Ijpn)
- Winardi. 2011. Peluang Penerapan Usahatani Konservasi Untuk Pertanama Gambir Di Sumatera Barat. *Jurnal Sumberdaya Lahan*, 5(2): 95-102.
- Wuyung, P. E. (2016). Induksi Dmba Dalam Karsinogenesis Kelenjar Payudara. *Pratista Patologi*, 5(1), 44-51.
- Yan, F. F., Sang, L. X., & Jiang, M. (2017). Catechins and their therapeutic benefits to inflammatory bowel disease. *Molecules*, 22(3), 484.
- Zhao, L., Liu, L., Guo, B., & Zhu, B. (2015). Regulation of adaptive immune responses by guiding cell movements in the spleen. *Frontiers in microbiology*, 6, 645.
- Zilhada, N. (2012). Uji Efek Imunomodulator Kombinasi Katekin Dari Fase Etil Asetat Gambir (*Uncaria Gambier, Roxb.*) Dan Eugenol Menggunakan Parameter Bersihan Karbon Secara In Vivo. *Simnaskba-2012*, 20(1), 304-314.
- Zuhra, S. A. 2022. *Uji Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Rimpang Temu Giring (Curcuma heyneana Valeton & Zijp) pada Mencit dengan Metode Bersihan Karbon* (Doctoral dissertation, Fakultas Farmasi).