UNIVERSITAS GUNADARMA

FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN FARMASI

KARYA TULIS ILMIAH

AKTIVITAS DAN KAPASITAS FAGOSITOSIS SEL MAKROFAG MENCIT (*Mus musculus*) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK DAUN MIANA *(Coleus scutellarioides* (L) Benth) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*

NAMA : **PUTRI ADILAH MULYANA**

NPM : **20721043**

JURUSAN : **FARMASI**

PEMBIMBING : **Dr. apt. RACHMI RIDHO, S.Farm., M.Farm**

Diajukan Guna Melengkapi Sebagian Syarat Dalam Mencapai

Gelar Setara Sarjana Muda

JAKARTA

2024

PERNYATAAN ORIGINALITAS DAN PUBLIKASI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama	:	Putri Adilah Mulyana
NPM	:	20721043
Program Studi	:	Farmasi
Fakultas	:	Ilmu Kesehatan dan Farmasi
Judul Karya Ilmiah	:	Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Mencit *(Mus Musculus)* dengan Pemberian Ekstrak Daun Miana *(Coleus scutellarioides* (L) Benth) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*
Tanggal Sidang	:	23 Agustus 2024
Tanggal Lulus	:	23 Agustus 2024

Dengan ini menyatakan bahwa hasil Karya Tulis Ilmiah yang telah saya buat ini merupakan hasil karya sendiri dan benar keasliannya. Apabila ternyata di kemudian hari Karya Tulis Ilmiah ini merupakan hasil plagiat atau penjiplakan terhadap karya orang lain, maka saya bersedia mempertanggungjawabkan sekaligus bersedia menerima sanksi berdasarkan aturan tata tertib di Universitas Gunadarma. Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tidak dipaksakan.

Jakarta, 23 Agustus 2024



(Putri Adilah Mulyana)

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Karya Ilmiah	:	Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Mencit (*Mus Musculus*) dengan Pemberian Ekstrak Daun Miana (*Coleus Scutellarioides* (L) Benth) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*
Nama	:	Putri Adilah M
NPM	:	20721043
Tanggal Sidang	:	23 Agustus 2024
Tanggal Lulus	:	23 Agustus 2024

Menyetujui,

Pembimbing	Kasubag. Sidang PI
(Dr. apt. Rachmi Ridho, M.Farm.)	**(apt. Dina Melia Oktavilantika, M.Sc)**

Ketua Program Studi Farmasi

(Prof. Dr. Sugeng Riyanto, M.S., apt.)

Putri Adilah Mulyana 20721043
Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Mencit *(Mus Musculus)* dengan Pemberian Ekstrak Daun Miana *(Coleus scutellarioides* (L) Benth) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*
Penulisan Ilmiah Prodi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Farmasi, Universitas Gunadarma, 2024

ABSTRAK

Di dalam tubuh, organ seperti limpa dan timus, sumsum tulang serta sel darah putih, antibodi dan hormon berperan penting dalam melawan infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme. Imunomodulator dapat memperkuat pertahanan tubuh dengan cara mengaktifkan sel T, sehingga tubuh lebih mampu melawan infeksi dan penyakit. Senyawa yang dikenal sebagai imunomodulator dapat membantu meningkatkan fungsi kekebalan tubuh manusia menjadi lebih baik. Sel makrofag adalah kumpulan sel fagosit atau sel-sel darah putih (monosit) dengan tujuan untuk membuang zat asing, sisa-sisa sel dan sel tumor. Daun miana (Coleus scutellarioides L. benth) yang mengandung golongan minyak atsiri, flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, tanin dan flavonoid. Daun miana dipercaya memiliki fungsi sebagai imunomodulator, antiinflamasi, dan antioksidan, serta mampu memodulasi respons imun pada tuberkulosis. Daun miana juga diketahui memiliki aktivitas antimikroba, antifungi, antiinflamasi, antioksidan, antidiabetes, dan antihistamin. Metode penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental laboratorik *(true experimental laboratoric)* untuk mengetahui aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag pada mencit dengan pemberian ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang memiliki aktivitas sebagai imunomodulator. Data didapatkan melalui metode eksperimental di Laboratorium Farmakologi Universitas Gunadarma dan dianalisis menggunakan statistik Anova. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan gambaran mengenai kapasitas dan aktifitas fagositosis sel makrofag ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus.*

Kata Kunci: Imunomodulator, Sel makrofag, Daun miana (Coleus scutellarioides L. benth), bakteri *Staphylococcus aureus*

Putri Adilah Mulyana 20721043

Activity and Phagocytic Capacity of Macrophage Cells of Mice (Mus Musculus) with Miana Leaf Extract (Coleus scutellarioides (L) Benth) against Staphylococcus Aureus Bacteria

Pharmaceutical Study Scientific Papers, Faculty of Health Sciences and Pharmacy, Gunadarma University, 2024

ABSTRACT

In the body, organs such as the spleen and thymus, bone marrow and white blood cells, antibodies and hormones play an important role in fighting infections caused by microorganisms. Immunomodulators can strengthen the body's defenses by activating T cells, so that the body is better able to fight infections and diseases. Compounds known as immunomodulators can help improve the human body's immune function for the better. Macrophage cells are a collection of phagocytic cells or white blood cells (monocytes) with the aim of removing foreign substances, cell debris and tumor cells. Miana leaves (Coleus scutellarioides L. benth) contain essential oils, flavonoids, alkaloids, steroids, saponins, tannins and flavonoids. Miana leaves are believed to have functions as immunomodulators, anti-inflammatories, and antioxidants, and are able to modulate the immune response in tuberculosis. Miana leaves are also known to have antimicrobial, antifungal, anti-inflammatory, antioxidant, antidiabetic, and antihistamine activities. The research method used is true experimental laboratoric research to determine the activity and phagocytic capacity of macrophage cells in mice by giving miana leaf extract (Coleus scutellarioides L. Benth) to Staphylococcus aureus bacteria which has activity as an immunomodulator. Data were obtained through experimental methods at the Pharmacology Laboratory of Gunadarma University and analyzed using Anova statistics. The results of this study are expected to provide an overview of the capacity and phagocytosis activity of macrophage cells of miana leaf extract (Coleus scutellarioides L. Benth) against Staphylococcus aureus bacteria.

Keyword: *Immunomodulator, Macrophage cells, Miana leaf (Coleus scutellarioides L. benth), Staphylococcus aureus bacteria*

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb

Bismillahirrohmanirrahim. Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa. Atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah yang berjudul **AKTIVITAS DAN KAPASITAS FAGOSITOSIS SEL MAKROFAG MENCIT *(Mus Musculus)* DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK DAUN MIANA *(Coleus Scutellarioides* (L) Benth) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus Aureus***. Selama proses penulisan ini, penulis mendapatkan banyak doa, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. E.S. Margianti, S.E.,M.M. selaku Rektor Universitas Gunadarma.
2. Prof. Dra. Arini Setiawati, PhD. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan dan Farmasi Universitas Gunadarma.
3. Bapak Prof. Dr. apt. Sugeng Riyanto, M.S. selaku Ketua Program Studi Farmasi Universitas Gunadarma.
4. Bapak Dr. Edi Sukirman, S.Si., MM., M.I.Kom. selaku Kepala Sidang Ujian Universitas Gunadarma.
5. Ibu apt. Dina Melia Oktavilantika, M.Sc. selaku Kepala Sub Bagian Sidang PI Fakultas Ilmu Kesehatan dan Farmasi Universitas Gunadarma
6. Ibu Dr. apt. Rachmi Ridho, S. Farm., M.Farm. selaku dosen pembimbing, yang telah memberikan bimbingan, masukan, dan dukungan selama proses penulisan karya tulis ilmiah ini. Tanpa bantuan dan arahan yang diberikan, penulisan karya tulis ini tidak akan dapat diselesaikan dengan baik.
7. Para Staff dan Dosen Program Studi S1 Farmasi Universitas Gunadarma.
8. Para Staff akademi dan Staff laboratorium Program Studi S1 Farmasi Universitas Gunadarma.
9. Orang tua penulis, Ibu Tiyani Setiyaningsih dan Bapak Teguh Mulyana. Terima kasih yang tulus penulis sampaikan kepada kedua orang tua tercinta,

yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan, dan doa tanpa henti sepanjang proses penyusunan karya tulis ini.

10. Kakak-kakak dan adik penulis, Teh Wulan, Ariya, Wira, dan Nabila yang telah banyak membantu serta menyemangati penulis.
11. Kepada member DAY6, Sungjin, Young K, Wonpil dan Dowoon. Terimakasih telah menyalurkan cinta, motivasi dan semangat lewat lagu-lagunya selama proses penulisan karya tulis ini. Sukses selalu kalian.
12. Kakak-kakak tingkat penulis, Robiatul Adawiyah, Berliana, Adlin yang senantiasa membantu dalam menyusun penulisan ini.
13. Teman-teman mahasiswa program studi S1 Farmasi yang telah memberikan dukungan selama proses penulisan skripsi.
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu

Penulis menyadari bahwa dengan berbagai keterbatasan yang ada, karya tulis ilmiah ini masih jauh dari sempurna dan memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis sangat menghargai kritik dan saran yang membangun dari pembaca. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penulis. Akhir kata, penulis berharap semoga karya tulis ilmiah ini dapat berlanjut hingga proses penelitian dan penyusunan skripsi berjalan dengan baik, serta dapat memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Jakarta, … Agustus 2024

Putri Adilah Mulyana

DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORIGINALITAS DAN PUBLIKASI ..... **ii**

LEMBAR PENGESAHAN……..**iii**

ABSTRAK…….....**iv**

ABSTRACT……**v**

KATA PENGANTAR..... **vi**

DAFTAR ISI ..... **viiiiii**

DAFTAR TABEL..... **ix**

DAFTAR GAMBAR..... **x**

DAFTAR LAMPIRAN ..... **xiii**

DAFTAR SINGKATAN..... **xiiiii**

BAB I..... 1

PENDAHULUAN 1

1.1 Latar Belakang..... 1

1.2 Rumusan Masalah..... 4

1.3 Tujuan Penelitian 4

1.4 Manfaat Penelitian 5

1.5 Batasan Masalah 6

BAB II 8

TINJAUAN PUSTAKA 8

2.1 Data Pustaka..... 8

2.1.1 Ekstrak Daun Miana Sebagai Imunomodulator 8

2.1.2 Skrining Fitokimia..... 12

2.2 Landasan Teoritik 16

2.2.1 Tinjauan Tanaman Miana *(Coleus scutellarioides* (L) Benth)..... 16

2.2.2 Tinjauan Metabolit Sekunder Tanaman Miana *(Coleus scutellarioides* (L) Benth)……..……..…….19

2.2.3 Tinjauan Ekstraksi Tanaman Miana *(Coleus scutellarioides* (L) Benth). 22
2.2.4 Tinjauan Imunologi 29
2.2.5 Tinjauan Bakteri 38
2.2.6 Tinjauan Hewan Uji 40
2.3 Kerangka Pemikiran 42
2.4 Hipotesis 43
BAB III 39
METODE PENELITIAN 39
3.1 Objek Penelitian 39
3.2.1 Jenis Penelitian 39
3.2.2 Rancangan Penelitian 39
3.2.3 Objek Penelitian 40
3.2.4 Alat dan Bahan 41
3.2.5 Variabel Penelitian 41
3.2 Metode Pengumpulan Data 42
3.3 Langkah Kerja 42
3.3.1 Ekstraksi 42
3.3.2 Standarisasi Ekstrak 44
3.3.3 Persiapan Uji Imunomodulator 46
3.3.4 Uji In Vivo Imunomodulator 51
3.4 Metode Analisis Data 54
3.5 Waktu dan Tempat Penelitian 54
3.5.1. Waktu Penelitian 54
3.5.2. Tempat Penelitian 54
DAFTAR PUSTAKA 56
LAMPIRAN 64

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Telusur Pustaka Daun Miana Sebagai Imunomodulator..... 8
Tabel 2.2 Skrining Fitokimia..... 12
Tabel 3.1 Tempat Penelitian.……..……54

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman miana (Coleus scutellariodes (L) Benth) 17
Gambar 2.2 Jalur biosintesis metabolit sekunder tumbuhan 20
Gambar 2.3 Struktur Etanol 25
Gambar 2.4 Skema respon imun innate dan adaptif 29
Gambar 2.5 Sel Leukosit dalam imunitas 32
Gambar 2.6 Proses fagositosis dan antigen eksogen oleh makrofag 36
Gambar 2.7 Bakteri Staphylococcus aureus 38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rencana Jadwal Penelitian 64
Lampiran 2. Desain Penelitian 65
Lampiran 3. Rencana Anggaran Penelitian 66
Lampiran 4. Diagram Operasional 68
Lampiran 5. Skema Besar 77

DAFTAR SINGKATAN

ADCC	*Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity*
AMP	*Adenosine Monophosphate*
APC	*Antigen Presenting Cells*
$BaCl_2$	*Barium Chloride*
BB	Berat badan
BSLT	*Brine Shrimp Lethality Test*
$C_4H_6O_3$	Asam asetatt anhidrida
CD	*Cluster of Differentiation*
CFU	*Colony-Forming Unit*
$CHCl_3$	Kloroform
CH_3COOH	Asam asetat
EDM	Ekstrak daun miana
$FeCl_3$	Besi (III) klorida
g	gram
GCMS	*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*
H_2SO_4	Asam sulfat
HCl	Asam klorida
HIV	*Human Immunodeficiency Virus*
Ig	Immunoglobulin
IL	Interleukin
Kg	Kilogram
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
LGL	*Large Granular Lymphocyte*
LPS	Lipopolisakarida
MAF	*Macrophage Activating Factor*
Mg	Magnesium
mg	miligram
MHC	*Major Histocompatibility Complex*
mL	mililiter

mRNA	*Messenger Ribonucleic Acid*
MRSA	*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*
M. tb	*Mycobacterium tuberculosis*
NA	Nutrien Agar
Na_2EDTA	*Sodium Ethylenediaminetetraacetic Acid*
NaCl	*Sodium Chloride*
Na CMC	*Sodium Carboxymethyl Cellulose*
NTD	*Neglected Tropical Diseases*
OAT	Obat Anti Tuberkulosis
SA	*Staphylococcus aureus*
SB	Simplisia basah
SK	Simplisia kering
TCR	*T-cell receptor*
TNF- α	*Tumor Necrosis Factor-alpha*
TLR	*Toll-Like Receptor*
TSST-1	*Toxic Shock Syndrome Toxin-1*
VEGF	*Vascular Endothelial Growth Factor*
WHO	*World Health Organization*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Iklim tropis di Indonesia menciptakan kondisi ideal bagi berkembangnya mikroba seperti virus, bakteri, jamur dan lain-lain. Hal ini menyebabkan penduduk indonesia mudah terserang penyakit dan menyebabkan masalah kesehatan sangat tinggi. Mikroorganisme dapat menyerang sistem imunitas tubuh dan menjadi agen penularan penyakit lainnya. Jika sistem imun sudah melemah maka perlindungan tubuh terhadap benda asing atau antigen tidak dapat dicegah sehingga menimbulkan fungsi tubuh terganggu juga menimbulkan reaksi tidak baik pada tubuh. Banyak patogen yang menyebabkan penyakit seperti tuberkulosis, malaria, dan HIV disebabkan infeksi mikroorganisme (Kemenkes RI, 2022). Menurut WHO, penyakit tropis terabaikan atau NTD (*Neglected Tropical Disease*) yang disebabkan patogen, seperti virus, bakteri, protozoa, cacing dan parasit terdapat 21 penyakit secara global. Menurut laporan Kemenkes tahun 2022, Indonesia masih menjadi penyumbang penyakit HIV (*Infeksi Immunodeficiency Virus*) terbanyak di Asia Tenggara sebanyak 543.100 orang dan sekitar 10% dari beban penyakit seluruh dunia (Kemenkes RI, 2022)

Infeksi yang terjadi akibat mikroorganisme seperti virus, bakteri, protozoa, cacing dan parasit yang dapat menyerang fungsi tubuh sehingga diperlukannya kekebalan tubuh, itu artinya imunitas sangat berperan penting dalam mencegah dan melawan penyakit yang masuk kedalam tubuh (Sabrina dkk, 2022). Respons kekebalan tubuh manusia dapat dibagi menjadi dua cabang dasar yaitu kekebalan bawaan (innate) dan kekebalan adaptif. Kekebalan bawaan memberikan pertahanan yang cepat tetapi tidak spesifik terhadap patogen dan terdiri dari komponen seluler dan humoral. Kekebalan adaptif berkembang selama masa hidup dan ditandai dengan spesifik dan daya ingatnya (Syamsul dkk, 2019).

Sistem kekebalan tubuh adalah jaringan yang rumit dari sel, jaringan, dan organ yang bekerja sama untuk melindungi tubuh dari serangan penyakit. Kulit,

selaput lendir, dan zat-zat seperti air liur adalah pertahanan pertama kita. Di dalam tubuh, organ seperti limpa dan timus, sumsum tulang serta sel darah putih, antibodi dan hormon berperan penting dalam melawan infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme (Syamsul dkk, 2019).

Sel-sel sistem kekebalan tubuh matang dan berkembang sebagian besar di sumsum tulang dan timus. Granulosit, monosit atau makrofag, sel NK, sel mast dan basofil adalah komponen utama sistem imun bawaan (Agnesa dkk, 2017). Sistem kekebalan adaptif bergantung pada dua jenis utama sel darah putih yaitu sel B dan sel T. Sel B berubah menjadi sel penghasil antibodi yang disebut sel plasma, yang melindungi tubuh dari patogen dalam respon imun. Sel T berkembang menjadi sel khusus yang menyerang langsung sel yang terinfeksi atau mengatur respons imun. Selain itu, sel pembunuh alami (*Natural Killer* atau NK) sangat penting dalam menghilangkan sel abnormal atau yang terinfeksi virus dengan sifat sitotoksik dan lisis (Fithra dkk, 2021).

Imunomodulator dapat memperkuat pertahanan tubuh dengan cara mengaktifkan sel T, sehingga tubuh lebih mampu melawan infeksi dan penyakit. Senyawa yang dikenal sebagai imunomodulator dapat membantu meningkatkan fungsi kekebalan tubuh manusia menjadi lebih baik (Perdana, 2022). Imunomodulator klinis dibagi menjadi tiga klasifikasi. Imunoadjuvants dianggap stimulan imun spesifik, baik dalam mengatur sistem imun. Imunosupresan baik dalam menekan sistem imun, termasuk kelompok obat struktural dan fungsional heterogen. Imunostimulan bekerja tidak spesifik dalam meningkatkan imunitas tubuh terhadap infeksi (Agnesa dkk, 2017). Secara umum mekanisme imunostimulan yaitu dengan memperbaiki dan menyeimbangkan sistem imun yang abnormal dengan meningkatkan imunitas spesifik dan non spesifik dalam mekanisme pertahanan seluler maupun humoral (Listiani dkk, 2019). Imunostimulan dapat meningkatkan sistem imun bawaan (non spesifik) dengan mengaktifkan atau meningkatkan jumlah fagositosis dalam mekanismenya (Agnesa dkk, 2017).

Jika bakteri menyerang tubuh, sistem kekebalan tubuh bawaan (non spesifik) akan melakukan respon primer dengan meningkatkan efektor seperti makrofag. Jika

bakteri terus menyerang, tubuh akan melakukan respon sekunder dengan memulai respon kekebalan adaptif (spesifik) dengan meningkatkan efektor seperti limfosit B dan limfosit T (Agnesa dkk, 2017). Sel makrofag adalah kumpulan sel fagosit atau sel sel darah putih (monosit) dengan tujuan untuk membuang zat asing, sisa-sisa sel dan sel tumor (Fithra dkk, 2021). Makrofag juga dapat melepaskan sitokin yang berfungsi sebagai sinyal dan menarik sel lainnya ke area dimana patogen terdeteksi. Dengan mekanisme fagositosis, sel fagosit menelan partikel asing, termasuk patogen, dan menghancurkannya di dalam sel. Sel fagosit menyebar diseluruh tubuh untuk mencari dan menghilangkan patogen dan serpihan sel seperti bakteri, virus, sel yang sudah mati dan partikel mineral. Proses fagositosis dapat menyebabkan reaksi inflamasi pada daerah yang terinfeksi seperti bengkak, abses atau nanah (Syamsul dkk, 2019).

Pengobatan secara konvensional menggunakan antibiotika seringkali gagal karena terjadi resistensi bakteri (Pakadang dkk, 2019). Di Indonesia telah banyak tanaman yang diketahui memiliki kemampuan sebagai imunostimulan. Penggunaan tanaman herbal sebagai alternatif pengobatan dan terapi menjadi pilihan karena dianggap rendah efek samping dan rendah toksisitas dari kandungan zat aktifnya sebagai imunomodulator. Tumbuhan yang telah diuji dan mengdukung kandungan aktif sebagai imunomodulator seperti daun kasturi (*Mongifera casturi*) yang bersifat imunostimulator pada proses fagositosis (Rahim dkk, 2017). Daun tanaman Gedi (*Abelmoschus manihot* L.) berfungsi meningkatkan aktivitas fagositosis (Prakarsa dkk, 2024). Dan pada bawang putih tunggal (*Allium sativum* L) melalui pengujian berpengaruh dalam meningkatkan fungsi sel fagositosis pada mencit yang ditandai dengan peningkatan aktivitas dan kapasitas fagositosis serta perubahan berat limfa. (Agnesa dkk, 2017).

Daun miana (*Coleus scutellarioides* L. benth) adalah tanaman ini populer sebagai tanaman hias karena keindahan daunnya yang beragam warna. Spesies tanaman ini yang daunnya telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional Indonesia (Umarudin dkk, 2019). Dikenal dengan sebutan tanaman daun iler dan banyak dijumpai di daerah Sulawesi yang mengandung golongan minyak atsiri, flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, tanin dan flavonoid. Senyawa flavonoid pada

daun miana secara farmakologis sebagai penghambat pertumbuhan bakteri, virus dan jamur (Basir dkk, 2020). Saponin berfungsi sebagai agen antimikroba dengan cara mengganggu stabilitas membran lipid bakteri, mengakibatkan kebocoran isi sel dan kematian sel. Tanin dalam daun miana memiliki efek bakterisidal yang kuat dengan mengganggu membran sel bakteri baik bakteri gram positif atau gram negatif dan menghambat fungsi protein. Terpenoid dan steroid pada daun miana yang dapat menghentikan bakteri (Basir dkk, 2020).

Pada penelitian yang telah dilakukan pada ekstrak daun miana yaitu efektif sebagai antihelmintik (Ridwan dkk, 2020), antijamur (Rahmawati dkk 2019), antibakteri (Anita dkk, 2019), antipiretik (Benjamin dkk, 2020), antioksidan (Khotimah dkk, 2018), dan sebagai imunomodulator (Sabrina dkk, 2022). Belum banyak penelitian yang membahas mengenai aktivitas imunomodulator daun miana dalam proses fagositosis. Sejalan dengan latar belakang tersebut, penulis berinisiatif untuk melakukan penelitian dengan judul "Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Mencit (*Mus musculus*) dengan Pemberian Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L). Benth) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ". Dalam uji aktivitas nya akan diberikan variasi dosis ekstrak daun miana kepada mencit guna melihat keefektifan dosis yang paling kuat dalam proses fagositosis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat diketahui masalah yang menjadi fokus pada penelitian ini, yakni:

1. Bagaimana efek imunomodulator dari ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* (L). Benth) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag pada mencit yang diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus* ?
2. Berapa dosis optimal dari ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* (L). Benth) yang efektif dalam meningkatkan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag pada mencit ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Menganalisis aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag dari ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* (L). Benth) pada mencit yang diinduksi baketri *Staphylococcus aureus.*

2. Tujuan Khusus

Menganalisis aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag dari ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* (L). Benth) pada mencit yang diinduksi baketri *Staphylococcus aureus* dengan mengukur beberapa parameter sebagai berikut :

a. Presentase aktivitas fagositosis sel makrofag
b. Presentase kapasitas fagositosis sel makrofag
c. Penentuan dosis optimal dari ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* (L). Benth).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Ilmiah

Diperoleh data ilmiah terkait efek imunomodulator dari ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* (L). Benth) meliputi mekanisme dan potensi zat aktif yang berperan dalam respon imun pada mencit, presentase aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag pada mencit serta dosis optimal ekstrak daun miana. Sehingga dapat mengembangkan ilmu pengetahuan dalam bidang Farmasi serta dipergunakan sebagai acuan dan bukti ilmiah dengan pengobatan dari daun Miana

2. Manfaat Khusus

a. Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menyediakan informasi yang berguna dalam pengembangan obat-obatan herbal sebagai imunomodulator.

b. Bagi institusi

Memberikan informasi kepada civitas akademika Universitas Gunadarma akan manfaat dari tanaman daun Miana sebagai imunomodulator dan mengembangkan penelitian lanjutan serta dapat

menumbuh kembangkannya di UG-*Techno Park*, Desa Jamali-Mulyasari, Kecamatan Mande, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat

c. Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat tanaman daun Miana sebagai imunomodulator dapat membantu meningkatkan perekonomian masyarakat melalui pembudidayaan tanaman daun Miana.

1.5 Batasan Masalah

1. Penelitian ini difokuskan pada eksplorasi potensi tanaman segar daun miana *(Coleus scutellarioides* (L) Benth) dari UG-*Techno Park* Desa Jamali-Mulyasari, Kecamatan Mande, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat.
2. Metode maserasi digunakan untuk mengekstraksi senyawa dari simplisia daun miana *(Coleus scutellarioides* (L) Benth).
3. Uji in vivo aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag pada mencit yang diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus*.
4. Menghitung presentase aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag pada mencit.
5. Penentuan dosis optimal ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* L. *Benth*) sebagai imunomodulator meningkatkan respon imun.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Data Pustaka

2.1.1 Ekstrak Daun Miana Sebagai Imunomodulator

Tabel 2. 1 Telusur Pustaka Daun Miana Sebagai Imunomodulator

No	Judul Jurnal	Tahun	Ringkasan Jurnal	Pustaka
1.	Pemanfaatan ekstrak daun mianan *(Coleus atropurpureus* L.(Bent*))* untuk meningkatkan respon imun benih ikan Nila *(Oreochromis niloticus)*	2023	Pemberian ekstrak daun miana (*C. atropurpureus* L. (Bent)) terbukti mampu meningkatkan respons imun benih ikan nila (*O. niloticus*), khususnya dengan peningkatan aktivitas fagositosis sel. Dosis optimal untuk meningkatkan aktivitas fagositosis adalah 2% esktrak per kilogram pakan.	(Ta'dung dkk, 2023)
2.	*Toll Like Receptor 4 Expression Profile in Mice Infected Mycobacterium Tuberculosis Given with Miana Leaves Extract (Coleus scutellarioides (L.) Benth) (Tuberculosis Preventive and, Curative Mechanisms)*	2022	Ekspresi protein TLR-4 pada tikus sehat tidak meningkat setelah pemberian EDM sebagai pencegahan. Pada tikus yang terinfeksi *M.tb*, perubahan ekspresi protein TLR-4 meningkat sebesar 17% sebelum pemberian	(Pakadang dkk, 2022)

			EDM kuratif sebesar 97%, dan turun sebesar 12% setelah pemberian OAT kuratif. Pada tikus yang terinfeksi M.tb, ekspresi protein TLR-4 berubah sebesar 20% sebelum pemberian pencegahan dan sebesar 102% setelah pemberian plasebo, dan sebesar 10% setelah pemberian OAT kuratif.	
3.	*The Effect of Miana (Coleus Scutellariodes [L]) on Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Expression in Balb/C Mice Infected with Mycobacterium Tuberculosis*	2021	Percobaan ini membuktikan adanya perbedaan yang cukup besar pada jumlah VEGF di antara kelompok yang dibandingkan antara kelompok perlakuan. Kadar VEGF pada kelompok yang diberi rifampisin, miana, dan kombinasi rifampisin serta miana menunjukkan penurunan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok plasebo. Kadar VEGF pada kelompok rifampisin secara signifikan lebih rendah	(Marlina dkk, 2021)

			dibandingkan dengan kelompok miana. Kadar VEGF dengan kelompok kombinasi rifampisin dan miana menunjukkan penurunan dibandingkan dengan kelompok miana. Tidak ada perbedaan signifikan kadar VEGF antara kelompok rifampisin dengan kelompok kombinasi rifampisin dan miana. Hasil ini menunjukkan bahwa daun miana memiliki efek terhadap kadar VEGF pada tikus yang terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.	
4.	*Expression of IL-10 in A.actinomycetemcomitans Induced Rat Treated by Purple Miana Leaves*	2019	Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun miana ungu, yang diberikan pada tikus yang diinduksi oleh *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan dosis 510 mg/kgBB, menunjukkan nilai yang sebanding dengan kontrol positif pada	(Amsyah dkk, 2019)

			ekspresi mRNA IL-10. Ini menunjukkan bahwa ekstrak daun miana ungu dapat berfungsi sebagai alternatif untuk pengobatan pasien dengan infeksi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, terutama mereka yang menderita periodontitis.	
5.	*Expression of TLR-4 in Salmonella typhi-Induced Balb/c Mice Treated by Miana Leaves (Coleus scutellaroides (L) Benth)*	2018	Dalam penelitian ini, ekstrak daun miana diberikan pada tikus Balb/c (35-50 gram) yang diinduksi oleh Salmonella typhi dengan dosis 510 mg/KgBB, dan menunjukkan nilai yang sebanding dengan kontrol positif pada ekspresi mRNA TLR-4. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak daun miana berfungsi sebagai metode alternatif untuk mengobati infeksi *Salmonella typhi*.	(Syamsuri dkk, 2018)
6.	*Effect of Purple Miana Leaf (Coleus Scutellorioide (L) Benth) from Tana Toraja District*	2017	Penelitian ini membuktikan ekstrak daun miana ungu efektif dalam menurunkan kadar	(Palette dkk, 2017)

	on IL-10 mRNA Expression in Mice Induced Mycobacterium Tuberculosis		mRNA secara signifikan, dan penurunan ini lebih rendah dibandingkan dengan kontrol negatif dan positif. Perbandingan antara kelompok menunjukkan hasil hampir sama antara kontrol positif dan kontrol intervensi. Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa ekstrak daun miana ungu mampu menurunkan ekspresi mRNA IL-10 dan kemampuannya tidak berbeda secara signifikan dengan kemampuan rifampisin.	

2.1.2 Skrining Fitokimia

Tabel 2. 2 Skrining Fitokimia

No	Judul Jurnal	Tahun	Ringkasan Jurnal	Pustaka
1.	Skrining Fitokimia Dan Profil KLT Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Daun Miana *(Coleus scutellarioides* Benth)	2023	Melalui skrining fitokimia ditemukan bahwa ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* benth) mengandung beragam metabolit sekunder yaitu alkaloid, steroid,	(Aji dkk, 2023)

			tannin, saponin, dan flavonoid. Hasil uji lanjutan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) mengidentifikasi keberadaan metabolit sekunder meliputi flavonoid, tannin, saponin dan alkaloid dengan masing masing nilai rf pada sampel, flavonoid : 0,86, tannin : 0,63, saponin: 0,68, dan alkaloid : 0,89.	
2.	Penetapan Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Miana Secara Spektrofotometer Uv-Vis	2023	Hasil analisis kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) terdapat senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan polifenol. Rata-rata kandungan total metabolit sekunder yang ditemukan adalah flavonoid sebesar 0,2163% b/b, saponin sebesar 0,5510% b/b,	(Yanuarty dkk, 2023)

			tanin sebesar 0,9152% b/b, dan alkaloid sebesar 12,66% b/b.	
3,	Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Miana Merah *(Coleus Hybridus)* Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)	2022	Analisis fitokimia mencakup uji untuk alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid. Toksisitas ekstrak dianalisis dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Konsentrasi ekstrak etanol bervariasi yaitu mulai dari 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, dan 0 µg/mL (sebagai kontrol), dan dianalisis selama 1 hari. Penelitian membuktikan bahwa ekstrak etanol daun *Coleus hybridus* mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan steroid.	(Artantyo dkk, 2022)
4.	*Characteristics of Chemical Compound*	2021	Melalui uji skrining fitokimia membuktikan	(Pakadang dkk, 2021)

	Content in Meniran Herb Extract and, Miana Leave Extract Based On Phytochemical Screening and Thin Layer Chromatoghraphy		esktrak daun miana mengandung senyawa alkaloid, tannin, saponin, flavonoid (flavon), fenol, steroid, terpenoid, phlobotanin dan antrakuinon. Dengan metode kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa ekstrak daun miana terkonfirmasi terdapat 1 senyawa polar, 21 senyawa semi polar dan 17 senyawa non polar.	
5.	*Molecular and Immunological Mechanisms of Miana Leaf (Coleus Scutellariodes [L] Benth) in Infectious Diseases*	2020	Melalui uji skrining fitokimia menggunakan UV-Vis spektrofotometri membuktikan bahwa ekstrak daun miana mengidentifikasi terdapat metabolit sekunder yaitu alkaloid, steroid, flavonoid, saponin dan tannin	(Yanto dkk, 2020)
6.	*Toxicity of Miana Leaf (Coleus Blumei) Extract Against Houseflies (Musca domestica)*	2019	Melalui uji skrining fitokimia menggunakan GCMS dan beberapa reagen menunjukkan	(Surahmaida dkk, 2019)

			bahwa ekstrak daun miana mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan terpenoid. Kandungan senyawa kimia yang dianalisis dengan GCMS yaitu: (2,4,4,4,16,16-D6)-3.alpha., 17.beta.-dihydroxy-5.beta.-dkk,rostane; (E,E)3,7,11-trimetil-2,6,10-dodecatrien-1-ol asetat; 1,8-bis(3,4-dicianofenil)antrasena; 23-R-metilkolesterol; Stigmasterol; Stigmast-8(14)-en-3.beta.-ol; dan .alpha.-Amirin asetat.	

2.2 Landasan Teoritik

2.2.1 Tinjauan Tanaman Miana *(Coleus scutellarioides* (L) Benth)

2.2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi taksonomi tanaman daun miana (*Coleus scutellariodes* (L) Benth) adalah sebagai berikut : (Widhihastuti dkk, 2024)

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Class : Dicotyledonae

Ordo : Solanales

Famili : Lamiaceae

Genus : *Coleus*

Species : *Coleus scutellarioides* L. Benth



Gambar 2.1 Tanaman miana (*Coleus scutellariodes* (L) Benth)(Sabrina dkk, 2022)

Nama – nama lain dari tanaman miana (*Coleus scutellariodes* (L) Benth) adalah sebagai berikut : (Sabrina dkk, 2022) :

Tanaman miana diberbagai daerah yaitu *Coleus atropurpureus* Benth, *Coleus ingratus* Benth, *Coleus laciniatus* Benth, *Coleus blumei* Benth. Sri Gresing (Batak), Adangadang (Palembang), Mayana dan Miana (Manado), Pilado (Sumatera Barat), Jawer Kotok (Sunda), Iler (Jawa), Kentangan (Jawa), Dhinkamandhinan (Madura), Rangon tati dan Serewung (Sulawesi), Ari-ari, Panci-panci, dan Sarusaru (Bugis), serta Mayana (NTT) dan Bunak Manu Larit (Timor).

2.2.1.2 Morfologi Tanaman

Miana adalah tanaman tropis yang populer, dikenal dengan bentuk daunnya yang bervariasi, mulai dari segitiga hingga oval, dan warna daunnya yang beragam, dari hijau hingga ungu tua. Bunganya yang unik tumbuh bergerombol dengan warna-warna cerah, menambah keindahan tanaman ini. Meskipun demikian, miana umumnya hanya hidup satu musim. Daunnya memiliki berbagai bentuk dan warna, termasuk chartreuse, merah karat, krem, dan ungu hitam. Semakin tua warna merah

pada daunnya, semakin baik kemampuannya menolerir sinar matahari. Miana berbunga di musim panas dan dari segi tampilan dapat mengurangi dampak dari dedaunan. Tumbuhan ini tumbuh di tanah yang hangat dengan drainase yang baik. Daun dan batangnya mengandung minyak atsiri, fenol, tanin, lemak, fitosterol, kalsium oksalat, dan zat pektik (Sabrina dkk, 2022).

Tanaman ini secara morfologi adalah semak yang tumbuh setinggi 30-150 cm dengan batang yang mudah patah. Daunnya tunggal, memiliki tangkai sepanjang 3-4 cm, berbentuk hati dengan pangkal menyerupai jantung. Tepi daun berlekuk halus berbentuk *crenate,* permukaannya agak mengkilap, dan ditutupi rambut halus. Daun tersebut berukuran panjang 7-11 cm dan lebar 3-6 cm, dengan corak tidak beraturan dan beragam warna, termasuk ungu kecoklatan, ungu kehitaman, merah hingga merah kecoklatan, serta beberapa dengan corak hijau, kuning, atau gradasi dari berbagai warna. Daun ini digunakan untuk pengobatan, baik dalam praktik medis maupun tradisional (Widhihastuti dkk, 2024).

Batang daun berbentuk persegi empat, berwarna ungu kemerahan, berambut, dan memiliki banyak cabang. Daunnya berbentuk oval dengan pangkal yang bulat atau melengkung menyerupai jantung dan ujung yang meruncing. Daunnya halus dan berkilau sedikit, berwarna ungu gelap, panjangnya sekitar 7-11 cm, dan lebarnya sekitar 3,5-6 cm, serta memiliki warna ungu kecoklatan hingga ungu kehitaman. Bunga-bunga tersusun di ujung tangkai batang, dengan warna yang bervariasi seperti putih, ungu, dan merah. Buahnya keras, berbentuk telur, dengan tekstur licin. Tanaman ini memiliki rasa sedikit pahit dan mengeluarkan aroma harum saat diremas, dengan bau khas dan rasa yang agak pahit (Widhihastuti dkk, 2024)

2.2.1.3 Habitat dan Penyebaran

Miana adalah tanaman yang termasuk dalam keluarga mint-mintan (Lamiaceae) dan berasal dari wilayah Asia Tenggara. Tanaman ini juga memiliki banyak nama yaitu *Coleus blumei*, *Plectranthus scutellarioides*, *Ocimum scutellarioides*, dan atau *Solenostemon scutellarioides*. Genus *Coleus* memiliki lebih dari 500 spesies. Tanaman ini memerlukan tanah yang lembap untuk tumbuh

dan biasanya mencapai tinggi 0,5 hingga 1 meter, meskipun ada yang bisa tumbuh hingga 2 meter. Tanaman ini subur, dasarnya kayu, dan sering ditanam sebab daun hiasnya yang beragam (Sabrina dkk, 2022)

Tanaman ini tersebar di negara Asia-Tropis, Burma, Australasia, Melanesia, Asia Tenggara, Polinesia, Cina Selatan, Kepulauan Solomon, dan Amerika Selatan. Daun miana hidup subur di berbagai ketinngian, mulai dari ketinggian 100 hingga 1.600 meter di atas permukaan laut. Pertumbuhan optimalnya terjadi di daerah perbukitan dengan paparan sinar matahari penuh mulai dari ketinggian 300 hingga 1.800 meter di atas permukaan laut (Widhihastuti dkk, 2024).

2.2.1.4 Manfaat Tanaman Miana

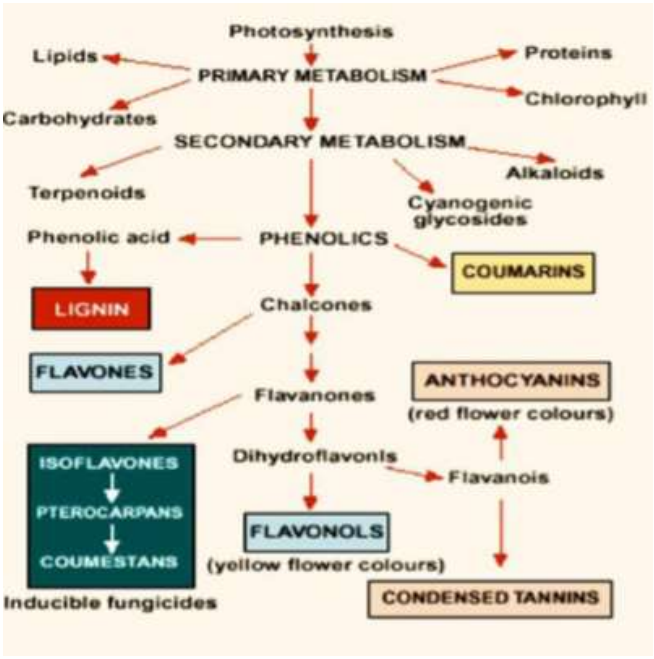
Masyarakat Halmahera Barat memiliki contoh penggunaan daun miana sebagai bahan obat. Biasanya, mereka mengekstrak daun miana dengan cara direbus, dipanggang di atas bara api, atau dicampur dengan air panas. Untuk meningkatkan konsentrasi ekstrak daun miana, daun tersebut diremas-remas hingga menjadi potongan-potongan kecil, sehingga keuntungan fitokimianya dapat meningkat, yang berpotensi meningkatkan efektivitasnya dalam menyembuhkan penyakit. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa daun miana memiliki sifat antimalaria. Senyawa kimia dalam daun miana terbukti memiliki efek antimalaria, terutama bila digunakan bersama dengan daun sirih (Widhihastuti dkk, 2024)

Selain itu, daun miana dipercaya memiliki fungsi sebagai imunomodulator, antiinflamasi, dan antioksidan, serta mampu memodulasi respons imun pada tuberkulosis. Daun miana juga diketahui memiliki aktivitas antimikroba, antifungi, antiinflamasi, antioksidan, antidiabetes, dan antihistamin (Prakarsa dkk, 2024)

2.2.2 Tinjauan Metabolit Sekunder Tanaman Miana *(Coleus scutellarioides* (L) Benth)

Metabolit sekunder adalah senyawa organik berukuran kecil yang ditemukan dalam jumlah kecil pada organisme. Senyawa ini tidak berperan dalam proses metabolisme primer seperti pertumbuhan atau reproduksi, melainkan memiliki fungsi khusus seperti pertahanan diri, perlawanan terhadap penyakit atau kondisi kritis, atau berperan sebagai hormon (Arel dkk, 2023).

Penelitian tentang daun miana sebagai bahan obat dan kandungan metabolit sekundernya telah banyak dilakukan. Studi menunjukkan hasil pada daun miana teridentifikasi keberadaan senyawa metabolit sekunder seperti steroid, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan flavonoid. Selain itu, daun miana juga mengandung antosianin, senyawa yang sering digunakan sebagai pewarna alami dalam industri (Widhihastuti dkk, 2024)



Gambar 2.2 Jalur biosintesis metabolit sekunder tumbuhan (Arel dkk, 2023)

Adapun metabolit primer adalah molekul besar yang sangat penting untuk kelangsungan hidup semua organisme yang terdiri dari karbohidrat, lipid, protein, vitamin, dan asam nukleat. Meskipun berasal dari alam, metabolit primer lebih sering dikaitkan dengan nutrisi dan makanan daripada dengan istilah bahan alam (Arel dkk, 2023).

2.2.2.1 Senyawa Flavonoid

Analisis kualitatif metabolit sekunder flavonoid dalam ekstrak etanol daun miana dilakukan dengan campuran reaktan magnesium dan klorida pekat, yang menunjukkan keberadaan senyawa flavonoid melalui pembentukan larutan

berwarna merah ungu. Flavonoid memiliki manfaat bagi dunia kesehatan, termasuk sebagai antifungi, antihistamin, antihipertensi, antibakteri, antivirus, dan lain-lain (Yanuarty dkk, 2023).

2.2.2.2 Senyawa Alkaloid

Senyawa alkaloid, yang memiliki sifat polaritas menegah antara polar dan nonpolar dan memiliki aktivitas antibakteri. Caranya dengan melibatkan gangguan pada sintesis peptidoglikan, sebuah polimer kompleks yang menyusun dinding sel bakteri seperti *Staphylococcus aureus*. Hal ini menyebabkan dinding sel bakteri menjadi lemah dan tidak stabil, sehingga bakteri tidak dapat bertahan hidup. Selain itu, pembentukan endapan berwarna jingga atau kuning seringkali dikaitkan dengan keberadaan alkaloid dalam suatu ekstrak (Artantyo dkk, 2022)

2.2.2.3 Senyawa Tannin

Tanin sebagai senyawa polar, memiliki mekanisme antibakteri dengan menargetkan dinding sel peptidoglikan bakteri. Kerusakan pada dinding sel ini menyebabkan lisis sel dan kematian bakteri. Selain itu, tanin juga menghambat aktivitas enzim, mengganggu proses metabolisme dan fungsi protein membran sel bakteri. (Artantyo dkk, 2022)

2.2.2.4 Senyawa Saponin

Ciri khas saponin adalah kemampuannya membentuk busa stabil dalam larutan air. Secara kimia, saponin merupakan glikosida amfipatik yang memiliki gugus hidrofilik dan lipofilik, mirip dengan molekul deterjen. Struktur dasar saponin terdiri dari sapogenin, yang merupakan senyawa steroid atau triterpena, dan gugus gula yang membuatnya larut dalam air. (Arel dkk, 2023)

2.2.2.5 Senyawa Terpenoid

Terpenoid adalah senyawa yang tidak larut air. Senyawa ini bekerja sebagai bakterisidal dengan cara mengganggu proses pembentukan membran atau dinding sel bakteri. Selain itu, terpenoid juga dapat menghambat sintesis protein, yang merupakan proses penting bagi pertumbuhan dan perkembangan sel bakteri. Kemampuan terpenoid untuk larut dalam lipid memungkinkannya dengan mudah menembus membran sel bakteri. Perubahan warna menjadi jingga, merah, atau

kuning seringkali digunakan sebagai uji pendahuluan untuk mendeteksi keberadaan terpenoid dalam suatu sampel. (Artantyo dkk, 2022).

Miana menunjukkan potensi dalam memodulasi sistem kekebalan dengan meningkatkan jumlah sel CD4. Miana juga merangsang produksi IL-37 dan IL-10, yang berperan sebagai sitokin anti-inflamasi. Selain itu, Miana mempengaruhi ekspresi TLR-4 sebagai respons terhadap LPS pada bakteri gram negatif. Oleh karena itu, Miana memiliki potensi yang signifikan dalam mengatasi penyakit infeksi, baik sebagai alternatif maupun sebagai tambahan dalam terapi antibiotik (Sabrina dkk, 2022)

2.2.3 Tinjauan Ekstraksi Tanaman Miana *(Coleus scutellarioides* (L) Benth)

2.2.3.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman adalah proses identifikasi tanaman untuk mengetahui nama ilmiah spesifiknya. Tujuannya adalah memastikan identitas tanaman dengan benar untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan. Proses ini didasarkan pada sistem klasifikasi tanaman tertentu. Determinasi dilakukan dengan menggunakan kunci identifikasi, yaitu alat bantu untuk mengenali tanaman. Kunci identifikasi biasanya berfokus pada ciri-ciri morfologi yang disusun dalam urutan dan bersifat dikotomi. Jika sebuah tumbuhan telah dibandingkan dengan tumbuhan lain yang sudah dikenal dan ternyata sama, maka proses tersebut disebut determinasi atau identifikasi. Tidak ada dua tumbuhan yang persis sama dalam ciri atau sifat. Oleh karena itu, istilah determinasi (menentukan, memastikan) dianggap lebih tepat daripada identifikasi (mempersamakan) (Arel dkk, 2023)

2.2.3.2 Ekstraksi Tanaman

1. Simplisia

   Sebelum ekstraksi dilakukan, sampel segar disiapkan menjadi simplisia yang akan digunakan sebagai bahan baku obat tradisional. Simplisia merupakan bahan alam yang telah dikeringkan dan masih dalam bentuk aslinya. Simplisia dibagi menjadi dua jenis berdasarkan preparasinya: simplisia basah dan simplisia kering. Simplisia basah merujuk pada bagian tumbuhan yang digunakan sebagai obat dalam keadaan segar, sementara

simplisia kering adalah bagian tumbuhan yang telah mengalami proses pengeringan. Proses pembuatan simplisia kering meliputi beberapa tahap: panen, sortasi basah, pencucian, pemotongan, pengeringan, sortasi kering, pewadahan, dan penyimpanan. Pengeringan simplisia dilakukan untuk mengurangi kadar air, menghambat pertumbuhan mikroorganisme, dan mencegah terjadinya reaksi enzimatik yang dapat merusak kandungan senyawa aktif. Dengan demikian, simplisia dapat disimpan lebih lama dan kualitasnya terjaga. (Alviola Bani dkk, 2023)

2. Preparasi Simplisia

Preparasi simplisia bertujuan untuk mengecilkan ukuran simplisia, menyamakan ukuran simplisia dan memperpanjang umur simplisia sehingga proses mudah dan tetap terjaga kualitasnya. Preparasi simplisia dapat dilakukan dengan dua metode: cara basah (SB) dan cara kering (SK). Dalam metode basah, sampel digunakan dalam bentuk simplisia segar dari tanaman tanpa dikeringkan terlebih dahulu. Sampel ditempatkan dalam oven vakum selama 24 jam untuk menghilangkan kadar air dengan cara penguapan pada suhu rendah dan tekanan rendah. Metode ini sangat sesuai untuk bahan yang sensitif terhadap suhu tinggi (Alviola Bani dkk, 2023).

Pada metode kering (SK), simplisia dibuat melalui beberapa tahap, yaitu pencucian, perajangan, dan pengeringan menggunakan sinar matahari. Tujuannya adalah untuk menghilangkan kadar air dalam tanaman sehingga diperoleh simplisia kering yang siap digunakan, dengan begitu simplisia memiliki daya simpan yang lebih panjang, terhindar dari kerusakan, dan kontaminasi mikroba. Setelah proses pengeringan, dilakukan sortasi kering untuk menghilangkan kontaminan yang masih tertinggal pada sampel. Kemudian, simplisia yang telah kering diblender dan diayak untuk menghasilkan serbuk simplisia yang seragam (Alviola Bani dkk, 2023).

3. Ekstraksi Tanaman

Ekstraksi senyawa aktif dari tanaman dapat dilakukan menggunakan berbagai metode, seperti maserasi, refluks, sokhlet, ultrasonic bath, dan *microwave assisted extraction*. Maserasi adalah proses perendaman serbuk

simplisia selama waktu tertentu dalam pelarut yang cocok pada suhu kamar. Metode menjadi pilihan utama dalam ekstraksi karena beberapa alasan, termasuk biaya yang rendah, kemudahan pelaksanaan, aplikabilitas yang mudah, serta tidak memerlukan alat khusus atau pemanasan. Selain itu, maserasi juga membantu mengurangi risiko kerusakan pada senyawa yang bersifat termolabil dalam tanaman (Alviola Bani dkk, 2023).

Dalam proses ekstraksi, bahan ekstrak dan pelarut akan langsung berinteraksi. Proses ini berlangsung secara dinamis dan umumnya dapat dibagi menjadi tiga tahap: pertama, pelarut merusak dinding sel dan jaringan, kemudian pelarut melarutkan senyawa metabolit di dalam sel menyebabkan pelarut dengan senyawa metabolit yang terlarut dikeluarkan atau dipisahkan dari bahan atau biomassa yang menghasilkan senyawa tersebut (Arel dkk, 2023).

4. Metode Ekstraksi Maserasi

Maserasi sebagai metode ekstraksi tertua dan sederhana, masih relevan hingga kini karena efisiensi biaya dan kesederhanaan peralatannya. Metode ini sangat cocok untuk senyawa termolabil karena tidak melibatkan pemanasan. Proses maserasi melibatkan perendaman bahan baku yang telah disiapkan dalam pelarut yang sesuai pada suhu ruang dan waktu tertentu. Untuk mempercepat proses pemindahan senyawa metabolit dari bahan tanaman ke dalam pelarut, pengadukan dilakukan secara kontinu atau berkala. Proses ekstraksi dianggap selesai ketika konsentrasi senyawa metabolit dalam larutan tidak bertambah lagi. Setelah itu, larutan ekstrak disaring menggunakan kertas saring untuk memperoleh ekstrak cair yang bersih (Arel dkk, 2023)

5. Pelarut

Dalam proses ekstraksi, pemilihan teknik ekstraksi dan jenis pelarut harus disesuaikan dengan sifat fisikokimia bahan baku dan metabolit sekunder yang ingin diisolasi. Selain memaksimalkan efisiensi ekstraksi, faktor-faktor seperti waktu ekstraksi, jumlah pelarut yang digunakan, biaya operasional, dan risiko kontaminasi juga perlu dipertimbangkan untuk

mendapatkan rendemen yang tinggi dengan kualitas ekstrak yang terjaga. Prinsip utama dalam pemilihan pelarut adalah kesesuaian polaritas antara pelarut dan metabolit yang akan diekstraksi. Selain itu, kemampuan pelarut untuk merusak dinding sel juga menjadi faktor penting dalam meningkatkan efisiensi ekstraksi (Arel dkk, 2023).

Uraian bahan :



Gambar 2.3 Struktur Etanol (Rowe dkk, 2009)

Nama resmi	: Etanol
Sinonim	: Alkohol
Rumusan molekul	: C_2H_6O
Berat molekul	: 46,07 g/mL
Pemerian	: Cairan mudah menguap, jernih, tidak berwarna; bau khas dan menyebabkan rasa terbakar pada lidah. Mudah menguap walaupun pada suhu rendah dan mendidih pada suhu 78º, mudah terbakar
Kelarutan	:Bercampur dengan air dan praktis bercampur dengan semua pelarut organik
Titik lebur	: -114,14 ℃
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat, jauh dari api

Salah satu jenis pelarut yang biasanya digunakan dalam peneletian adalah etanol. Etanol adalah pelarut organik yang sering digunakan untuk proses ekstraksi. Etanol merupakan pelarut organik yang umum digunakan dalam proses ekstraksi karena toksisitasnya yang rendah, ketersediaannya yang melimpah, biaya murah dan kemudahan penggunaannya. Etanol juga dianggap aman untuk digunakan dalam produksi obat-obatan dan makanan. Selain itu, etanol memiliki efisiensi ekstraksi yang tinggi dan ramah

lingkungan (Arel dkk, 2023). Dipilih etanol dengan konsentrasi 96% karena konsentrasinya lebih tinggi dibandingkan etanol 70%. Menyebabkan lebih efektif dalam melarutkan senyawa organik atau bahan aktif yang kurang larut dalam air atau pelarut yang mengandung lebih banyak air, seperti etanol 70%. Kemudian karena etanol 96% kandungan airnya lebih sedikit sehingga dapat mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat non-polar yang sulit larut dalam air, pelarut ini juga mudah menguap dibandingkan etanol 70%. Hal ini berguna dalam proses pengeringan atau pemisahan pelarut dari larutan, mengurangi resiko kontaminasi dari air yang mengganggu reaksi kimia atau kestabilan senyawa yang diinginkan (Yunita dan Khodijah, 2020)

2.2.3.3 Standarisasi Tanaman

Standarisasi adalah proses yang bertujuan untuk menetapkan standar kualitas yang konsisten bagi suatu bahan, termasuk ekstrak. Standar kualitas ini ditentukan berdasarkan parameter-parameter tertentu yang telah ditetapkan. Parameter-parameter tersebut dapat dibagi menjadi dua kategori, yaitu parameter spesifik yang unik untuk setiap jenis ekstrak dan parameter nonspesifik yang berlaku umum untuk semua ekstrak. (Fatimawali dkk, 2020). Menurut Keputusan Menteri Kesehatan RI No: 55/Menkes/SK/1/2000, obat tradisional yang beredar di Indonesia harus memenuhi standar mutu, keamanan, dan kemanfaatannya (Maryam dkk, 2020)

1. Penentuan Parameter Spesifik
    a) Identitas

        Identitas ekstrak merupakan langkah awal yang krusial dalam pengujian untuk memastikan keaslian dan identitas ekstrak. (Ulfah dkk, 2020). Deskripsi tata nama ekstrak mencakup nama ekstrak, nama botani tanaman sumber, bagian tanaman yang diekstraksi, dan nama lokal tanaman tersebut. (Maryam dkk, 2020). Ekstrak tumbuhan dapat mengandung senyawa marker, yaitu senyawa kimia spesifik yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi secara objektif asal usul dan karakteristik ekstrak tersebut.

Keberadaan senyawa marker memberikan bukti kuat mengenai identitas suatu ekstrak (Depkes RI, 2000)

b) Organoleptis

Dilakukan melalui pengamatan organoleptik dengan menggunakan panca indera untuk mendeskripsikan karakteristik fisik seperti bentuk, warna, aroma, rasa, dan ukuran (Maryam dkk, 2020). Pengenalan pertama secara sederhana dan seobyektif mungkin (Depkes RI, 2000)

c) Senyawa terlarut air

Pengujian kelarutan senyawa dalam pelarut tertentu memungkinkan kita untuk memperkirakan jumlah kandungan senyawa polar (larut dalam air) dan non-polar yaitu larut dalam etanol pada ekstrak (Ulfah dkk, 2020).

d) Senyawa terlarut etanol

Dengan mengukur berapa banyak bagian dari ekstrak yang larut dalam air dan alkohol, bisa memperkirakan jumlah kandungan zat aktif di dalamnya. Zat yang larut dalam air biasanya bersifat polar, sedangkan yang larut dalam alkohol cenderung bersifat non-polar. Namun, ini gambaran dan belum tentu berhubungan langsung dengan khasiat obatnya (Ulfah dkk, 2020).

e) Kandungan kimia

Sebelum menentukan kadar senyawa identitas, senyawa utama, atau senyawa aktif lainnya dalam suatu sampel, metode analisis yang digunakan harus divalidasi terlebih dahulu. Validasi meliputi pengujian batas deteksi, selektivitas, linearitas, ketelitian, dan ketepatan. Tujuannya adalah untuk memperoleh data kuantitatif yang akurat dan dapat diandalkan mengenai kandungan senyawa target, sehingga dapat dikaitkan dengan aktivitas biologis senyawa tersebut (Depkes RI, 2000).

2. Penentuan Parameter Non Spesifik

a) Kadar air ekstrak

Kadar air merupakan parameter penting dalam menentukan kualitas dan stabilitas bahan pangan. Oleh karena itu, penetapan kadar air pada bahan obat alam sangat krusial untuk memastikan penanganan yang tepat selama proses produksi, penyimpanan, dan distribusi. Kadar air yang tinggi pada

bahan obat alam dapat mempengaruhi mutu produk, karena semakin tinggi kadar air, semakin pendek umur simpannya. Kadar air yang tinggi memungkinkan pertumbuhan mikroba, sehingga penting untuk mengetahui kandungan air dalam bahan untuk memprediksi umur simpannya. Persyaratan mutu kadar air ekstrak yang diperbolehkan yaitu 5-30% (Ulfah dkk, 2020).

b) Kadar abu total

Penetapan kadar abu total pada ekstrak memberikan informasi mengenai kandungan mineral anorganik yang berasal dari bahan baku maupun kontaminan selama proses ekstraksi. Selain itu, kadar abu juga dapat digunakan sebagai indikator tingkat kemurnian ekstrak. Syarat mutu standar kadar abu total ekstrak yaitu 16,6% (Ulfah dkk, 2020)

c) Kadar abu tidak larut asam

Penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk mengevaluasi tingkat kemurnian ekstrak dengan mengukur jumlah mineral anorganik yang tidak larut dalam asam. Kandungan mineral ini umumnya berasal dari kontaminan eksternal seperti tanah atau pasir. Syarat mutu standar kadar abu tidak larut asam ekstrak yaitu tidak lebih dari 1% (Ulfah dkk, 2020).

d) Susut pengeringan

Penetapan susut pengeringan pada ekstrak dilakukan untuk menentukan jumlah maksimum senyawa yang hilang selama proses pengeringan. Nilai susut pengeringan yang diperoleh harus memenuhi persyaratan yang tercantum dalam Farmakope Herbal, yaitu tidak lebih dari 11%. (Ulfah dkk, 2020).

e) Cemaran logam berat

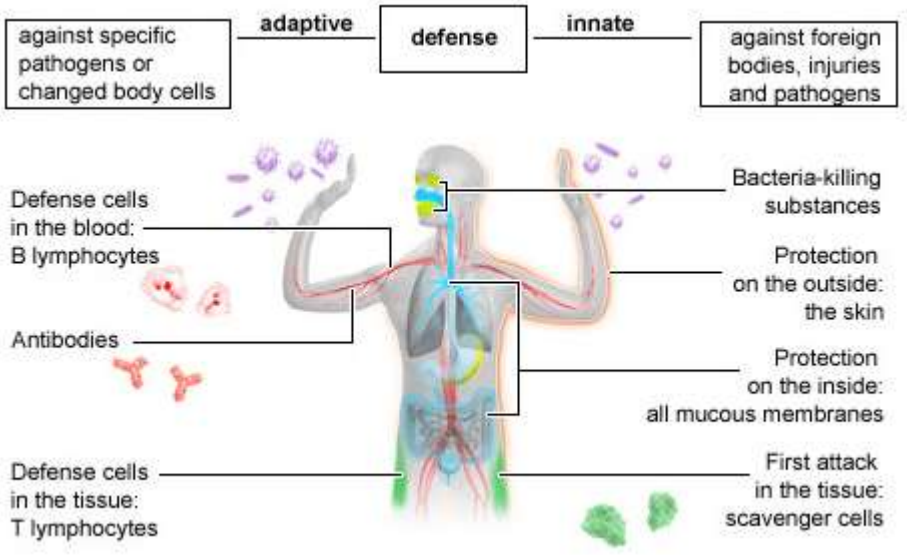
Cemaran logam berat seperti timbal (Pb), arsen (As), dan merkuri (Hg) pada bahan baku ekstrak dapat menimbulkan risiko kesehatan yang serius jika kadarnya melebihi ambang batas yang ditetapkan, yaitu 10 mg/KgBB untuk Pb, 5 mg/kgBB untuk As, dan 1 mg/kgBB untuk Hg. (Ulfah dkk, 2020).

2.2.4 Tinjauan Imunologi

2.2.4.1 Sistem imun

Sistem imun merupakan mekanisme pertahanan tubuh terhadap berbagai patogen, termasuk bakteri, virus, jamur, protozoa, dan parasit. Respons imun yang efektif umumnya dapat mengatasi infeksi dan memulihkan kondisi tubuh. Infeksi pada manusia biasanya bersifat sementara dan jarang menyebabkan kerusakan permanen setelah sembuh. Ini karena tubuh manusia memiliki sistem pertahanan atau sistem imun yang melindungi tubuh dari patogen-patogen tersebut (Fithra dkk, 2021). Komponen-komponen dalam tubuh kita, seperti sel dan molekul, bekerja sama untuk membentuk sistem kekebalan tubuh. Sistem ini akan bereaksi ketika ada benda asing yang masuk ke dalam tubuh, seperti bakteri atau virus. Reaksi ini disebut respons imun. (Syamsul dkk, 2019).

Efektivitas respons imun seseorang terhadap patogen sangat bergantung pada kemampuan sistem imun dalam mengenali antigen pada permukaan mikroorganisme. Respons imun yang tepat akan melibatkan berbagai komponen seluler dan jaringan limfoid untuk menetralkan dan menghilangkan patogen tanpa menimbulkan kerusakan pada jaringan tubuh inang. (Fithra dkk, 2021).



Gambar 2.4 Skema respon imun innate dan adaptif (Cologne, 2006)

Sistem pertahanan tubuh terdiri dari dua garis pertahanan pertama yang merupakan bagian dari sistem imun bawaan atau alamiah (*innate immunity*), dan garis pertahanan kedua yang merupakan sistem imun didapat (*acquired immunity*) atau adaptif (*adaptive immunity*). Sistem imun bawaan terdiri dari dua garis pertahanan. Garis pertama adalah barier fisik dan kimia seperti kulit, lendir, dan enzim pencernaan. Garis kedua melibatkan proses fagositosis, inflamasi, dan demam sebagai respons terhadap invasi patogen. Ketika garis pertahanan pertama tubuh terganggu, respons imun bawaan akan segera diaktifkan. Namun, jika patogen berhasil melewati garis pertahanan bawaan, sistem imun adaptif akan diinduksi. Respons imun adaptif lebih lambat karena melibatkan proses pembentukan sel-sel memori yang spesifik terhadap patogen. (Fithra dkk, 2021).

2.2.4.2 Sistem imun non spesifik (innate)

Sistem imun non spesifik atau respon imun bawaan (*innate*) menggunakan berbagai mekanisme untuk melawan infeksi yang melibatkan sel, seperti fagositosis dan sitotoksis, serta melalui faktor-faktor yang disekresikan, seperti peptida antimikroba (AMP), faktor komplemen, alarmin, sitokin/kemokin, protein seperti kitinase, protein fase akut, dan protease. proses inflamasi dan demam juga merupakan bagian dari respons imun bawaan untuk melawan infeksi. (Fithra dkk, 2021). Peran penting sistem imun bawaan meliputi: membawa sel imun ke area infeksi dengan menghasilkan faktor kimia seperti sitokin; mengaktifkan *cascade* komplemen untuk mengenali bakteri, mengaktifkan sel, dan membantu membersihkan jaringan yg rusak atau sel mati; mengenali dan memusnahkan zat asing di organ, jaringan, darah, dan getah bening melalui sel leukosit; mengaktifkan sistem imun adaptif dengan presentasi antigen; bertindak sebagai pencegah fisik dan kimia terhadap agen infeksi, termasuk melalui pencegah fisik seperti kulit dan pencegah kimia seperti faktor penggumpalan darah yang dilepaskan setelah cedera yang masuk pertahanan fisik awal (Fithra dkk, 2021)

2.2.4.3 Sistem imun spesifik (adaptif)

Sistem imun adaptif mampu membedakan antara sel tubuh sendiri dan sel asing atau patogen. Kemampuan ini memungkinkan sistem imun untuk menghasilkan respons yang sangat spesifik terhadap patogen tertentu. Selain itu,

sistem imun adaptif juga memiliki kemampuan untuk "mengingat" paparan sebelumnya terhadap patogen, sehingga respons imun yang lebih cepat dan efektif dapat terjadi pada paparan ulang. Berdasarkan mekanisme yang terlibat, respons imun adaptif dapat dibagi menjadi respons imun humoral yang melibatkan produksi antibodi dan respons imun seluler yang melibatkan aktivasi sel T (Fithra dkk, 2021). Pada sistem imun spesifik, Sel T mengaktifkan makrofag untuk menghancurkan mikroba atau aktivasi sel CTC/Tc untuk menghancurkan sel imun yang terinfeksi, sementara sel B mengeluarkan antibodi untuk menghilangkan mikroba ekstraseluler (Baratawidjaja, 2009). Limfosit B memiliki reseptor antigen spesifik berupa imunoglobulin (Ig) membran yang memungkinkannya mengenali antigen secara langsung tanpa memerlukan presentasi antigen oleh sel penyaji antigen. (Fithra dkk, 2021). Pada sistem imun selular adalah sel Th. Sel T helper melepaskan sitokin yang membantu mengaktivasi sel T untuk mengikat kompleks antigen-MHC pada sel yang terinfeksi dan membedakan sel T menjadi sel T sitotoksik. Sinyal dari Th akan menginduksi limfosit untuk memproduksi sitokin yang disebut limfokin, seperti interferon, yang membantu makrofag menghancurkan mikroorganisme tersebut (Fithra dkk, 2021).

2.2.4.4 Fagositosis

Fagositosis merupakan proses biologis di mana sel fagosit, seperti neutrofil dan makrofag, menelan dan mencerna partikel asing yang masuk ke dalam tubuh. Selain menelan bakteri, proses fagositosis juga memicu aktivasi sel makrofag untuk mensintesis berbagai enzim lisosom yang berperan penting dalam penghancuran patogen (seperti *reactive oxygen intermediates, inducible nitric oxide synthase*, dan *lysosomal protease*) serta sitokin (seperti IL-1 dan TNF-α), yang bersifat toksik terhadap patogen yang difagosit (Rosnizar dkk, 2017)

Sel-sel fagosit memiliki berbagai fungsi penting dalam pertahanan tubuh. Mereka berperan dalam aktivitas non-spesifik seperti fagositosis dan sekresi berbagai monokin serta enzim. Namun, fungsi-fungsi ini sering diperkuat oleh limfokin yang dihasilkan dari respons imun. Banyak mikroorganisme memiliki produk ekstraseluler, seperti kapsel polisakarida pneumokokus, yang dapat

menghambat fagositosis. Ketika mikroorganisme tersebut berhasil ditelan oleh fagosit, mereka akan diserang oleh berbagai sistem mikrobisidal. Sel-sel fagosit dan sel NK dapat memiliki reseptor untuk Fc dari antibodi, memungkinkan mereka untuk membunuh sel yang terinfeksi melalui mekanisme *Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity* (ADCC). Jika sel yang terinfeksi virus atau jamur dilapisi dengan molekul antibodi (IgG), sel NK yang memiliki reseptor untuk Fc sangat rentan untuk menghancurkan sel tersebut.(Subowo, 2018).

2.2.4.5 Makrofag

Makrofag berperan sebagai sel penyaji antigen utama, menangkap, memproses, dan mempresentasikan antigen bersama molekul MHC kelas II kepada sel T helper. Aktivasi sel T oleh makrofag akan memicu produksi sitokin yang mengaktifkan sel imun lainnya ke lokasi inflamasi seperti sel T sitotoksik dan sel B. Selain itu, makrofag juga memiliki fungsi efektor seperti pembunuhan sel tumor dan bakteri. Aktivitas makrofag dipengaruhi oleh *Macrophage Activating Factor* (MAF), interferon-γ, dan IL-3 yang disekresikan oleh limfosit T (Fithra dkk, 2021).

Makrofag mengekspresikan reseptor CD14 yang berperan dalam pengenalan patogen. Reseptor CD14 berinteraksi dengan kompleks polisakarida lipopolisakarida (LPS) dan protein pengikat LPS (LBP), memicu proses fagositosis terhadap bakteri hidup. Pengikatan bakteri oleh reseptor pada membran makrofag merupakan langkah awal dalam proses fagositosis (Rosnizar dkk, 2017)

Sel sel imun yang berperan dalam imunitas :



Gambar 2.5 Sel Leukosit dalam imunitas (Baratawidjaja, 2009)

1. Sel Leukosit (Baratawidjaja, 2009)

   a. Monosit

      Monosit adalah jenis sel fagosit yang tersebar luas di berbagai organ limfoid dan organ lain. Mereka berfungsi sebagai *Antigen-Presenting Cell* (APC), mampu mengenali, menyerang mikroba dan sel kanker, serta menghasilkan sitokin. Sitokin ini membantu mengoordinasikan respons imun terhadap infeksi. Salah satu fungsinya adalah memproduksi IL-1, IL-6, dan TNF-α yang berperan dalam meningkatkan suhu tubuh dan merangsang produksi protein fase akut di hati.

   b. Neutrofil

      Neutrofil adalah sel pertama yang dikirim ke lokasi masuknya dan pertumbuhan bakteri dalam tubuh. Mereka merupakan mayoritas dari leukosit yang beredar dalam sirkulasi. Neutrofil memiliki reseptor untuk IgG (Fcγ-R) dan komplemen, yang memungkinkannya mengenali patogen secara langsung. Kemampuannya untuk mengikat dan memfagosit patogen meningkat ketika antibodi atau komplemen yang berfungsi sebagai opsonin melekat padanya.

   c. Eusinofil

      Eosinofil merupakan granulosit yang menyusun 2-5% dari total leukosit. Selain memiliki fungsi fagositosis, eosinofil juga terlibat dalam respons alergi dengan melepaskan mediator inflamasi melalui proses degranulasi. Fungsi utama eosinofil adalah dalam pertahanan terhadap infeksi parasit dan opsonisasi kompleks antigen-antibodi..

   d. Basofil

      Basofil dapat berfungsi sebagai fagosit dan berperan dalam melepaskan mediator inflamasi. Saat diaktifkan, basofil juga mengeluarkan berbagai sitokin. Degranulasi sel mast dan basofil dipicu oleh ikatan silang antara antigen dan IgE yang terikat pada reseptor Fc. Peningkatan kadar IgE dalam serum merupakan karakteristik dari reaksi

alergi. Proliferasi basofil dirangsang oleh interleukin-3 (IL-3) dan interleukin-4 (IL-4), yang sering meningkat pada infeksi parasit.

e. Limfosit T

Sel limfosit berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh yang spesifik, dimana imunitas seluler dan humoral merupakan dua lengan utama respons imun adaptif. Sel T, terutama sel T CD4+, berperan sentral dalam mengatur kedua lengan ini. Pada imunitas humoral, sel T CD4+ membantu aktivasi dan diferensiasi sel B menjadi sel plasma penghasil antibodi. Sedangkan pada imunitas seluler, sel T CD4+ mengaktifkan makrofag untuk fagositosis patogen atau mengaktifkan sel T CD8+ untuk lisis sel yang terinfeksi.

2. Sel T

Berdasarkan fungsinya, limfosit T dapat dibagi menjadi beberapa subtipe. Sel T sitotoksik berperan dalam eliminasi sel yang terinfeksi atau sel tumor. Sel T helper berfungsi mengatur respons imun dengan mengaktifkan sel B dan makrofag. Selain itu, sel T regulator berperan dalam menjaga toleransi imun dengan menekan respons imun yang berlebihan (Fithra dkk, 2021).

3. Sel B

Munculnya IgD pada permukaan sel B menandai kematangan fungsional sel B. Sel B dewasa yang belum pernah berinteraksi dengan antigen disebut sel B naif. Sel B naif mengekspresikan IgM dan IgD sebagai reseptor antigen. Ketika berinteraksi dengan antigen spesifik, sel B naif akan mengalami proliferasi dan diferensiasi menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi kelas IgG, IgA, atau IgE. Sintesis IgM dan IgD merupakan proses yang tidak tergantung pada antigen, sedangkan produksi IgG, IgA, dan IgE memerlukan stimulasi antigen (Fithra dkk, 2021).

4. Sel NK (*Natural Killer*)

Sel Natural Killer (NK) merupakan limfosit granular besar (LGL) yang memiliki kemampuan untuk menghancurkan sel tumor dan sel yang terinfeksi virus. Sel NK mengenali sel target melalui reseptor pengaktif dan

penghambat. Reseptor pengaktif mengenali molekul stres atau perubahan pada permukaan sel, sedangkan reseptor penghambat mengenali molekul MHC kelas I yang diekspresikan oleh sel normal. Sel NK akan menginduksi apoptosis pada sel target yang memiliki ekspresi MHC kelas I rendah atau tidak ada (Fithra dkk, 2021).

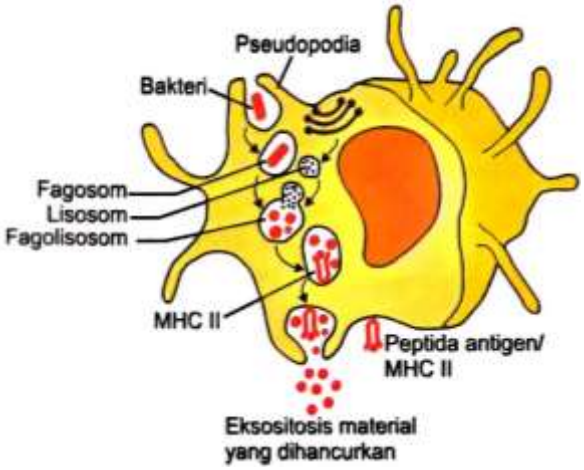
5. Sel Dendritik

Sel dendritik (SD) berperan dalam inisiasi protein asing, pembentukan respons imun seluler dan humoral, aktivasi limfosit-T naif, limfosit-T, CTL, dan sel-B. Sel dendritik menangkap antigen asing, memprosesnya, dan menyajikannya pada molekul MHC kelas II kepada sel T. Interaksi antara kompleks MHC-peptida antigen dengan T-cell receptor (TCR) pada sel T akan memicu aktivasi sel T dan memulai respons imun spesifik. Sel dendritik melakukan berbagai tugas, termasuk pengenalan antigen, pengikatan antigen, pemrosesan antigen, dan pengiriman antigen ke sel T atau sel B.

2.2.4.6 Mekanisme Makrofag

Neutrofil dan makrofag merupakan sel fagosit yang berperan penting dalam pertahanan tubuh terhadap infeksi. Keduanya dilengkapi dengan reseptor permukaan sel yang dapat mengenali berbagai macam mikroorganisme. Makrofag, selain memiliki fungsi fagositosis, juga menghasilkan sitokin yang berperan dalam merekrut sel imun lainnya ke lokasi infeksi dan merangsang proses perbaikan jaringan dan menggantinya dengan jaringan ikat. Makrofag memiliki peran penting dalam mengaktifkan respons imun adaptif dengan merangsang limfosit T. Sitokin yang diproduksi oleh makrofag akan mengaktifkan sel makrofag itu sendiri, pertumbuhan sel yang lebih besar, pelipatan membran plasma, pembentukan

sejumlah besar pseudopodia, meningkatkan kemampuan fagositosis dan membunuh mikroorganisme dan sel tumor (Akib, 2008).



Gambar 2.6 Proses fagositosis dan antigen eksogen oleh makrofag (Baratawidjaja, 2009)

Monosit dan makrofag berperan sebagai sel penyaji antigen, memecah protein asing dan mikroba menjadi peptida kecil. Peptida-peptida ini kemudian disajikan pada permukaan sel dalam kompleks dengan molekul MHC II. Sel T helper mengenali kompleks MHC-peptida antigen ini dan memulai respons imun. Selain protein ekstraseluler, protein intraseluler seperti antigen virus juga dapat diproses dan disajikan pada molekul MHC I (Akib, 2008)

2.2.4.7 Aktivitas makrofag

Salah satu fungsi utama makrofag dalam sistem kekebalan tubuh adalah menelan dan mencerna partikel asing, termasuk bakteri, virus, dan sel-sel tubuh yang sudah mati. Proses penelanan ini disebut fagositosis. Untuk meningkatkan efisiensi proses fagositosis, seringkali digunakan zat-zat yang dapat memodulasi atau mengatur respons imun disebut imunomodulator. Aktivitas fagositosis makrofag peritoneum mencit digunakan sebagai parameter untuk menilai potensi imunomodulator suatu senyawa. Persentase makrofag yang aktif menelan partikel uji dari total populasi makrofag yang diamati digunakan sebagai indikator aktivitas fagositosis dari total 100 sel yang diperiksa (Wahyuni dkk, 2019).

$$\%\ Aktivtas\ makrofag = \frac{Junlah\ sel\ makrofag\ aktif}{Jumlah\ sel\ makrofag\ total}\ x\ 100\%$$

Makrofag yang aktif ditandai dengan perubahan bentuk dan ukuran, yaitu pembesaran makrofag dengan penjuluran pseudopodia yang sangat bervariasi. Fagosom pada makrofag aktif menunjukkan membran yang lebih berliku, dengan peningkatan jumlah lisosom, pembesaran badan Golgi, dan perkembangan retikulum endoplasma kasar. Sebaliknya, makrofag yang tidak aktif memiliki bentuk dan ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan makrofag yang aktif. Makrofag, sebagai sel fagosit, memiliki dua mekanisme fagositosis: oksidatif dan non-oksidatif. Makrofag juga dapat mensekresikan IL-12, yang mendukung diferensiasi sel T CD4 menjadi sel Th1. Sel Th1 ini kemudian akan mengaktifkan makrofag (Syachriyani dkk, 2023)

Makrofag dapat dipicu berbagai rangsangan dan perannya untuk menelan dan mencerna benda asing seperti bakteri atau sel tubuh yang rusak. Kandungan lipopolisakarida pada dinding sel bakteri merupakan sinyal yang dapat mengaktifkan makrofag. Aktivasi makrofag meningkatkan kemampuannya dalam menelan benda asing melalui proses fagositosis. Makrofag menghancurkan berbagai patogen dan partikel asing, termasuk bakteri dan sel-sel mati. sinyal peradangan akan menarik sel fagosit seperti makrofag dan neutrofil ke lokasi infeksi untuk menghancurkan mikroorganisme penyebab penyakit (Syachriyani dkk, 2023).

2.2.4.8 Kapasitas Makrofag

Jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* yang terfagositosis oleh 100 sel makrofag digunakan sebagai parameter untuk menilai kapasitas fagositosis makrofag. Parameter ini memberikan gambaran kuantitatif tentang kemampuan sel makrofag dalam menelan dan mencerna patogen (Rosnizar dkk, 2017). Untuk menghitung bakteri yang terfagositosis, digunakan mikroskop dengan perbesaran 100x, dan jumlah bakteri dalam setiap makrofag diamati (Prakarsa dkk, 2024)

$$Kapasitas\ makrofag = \frac{Junlah\ bakteri\ terfagosit}{Jumlah\ 100\ makrofag\ aktif}$$

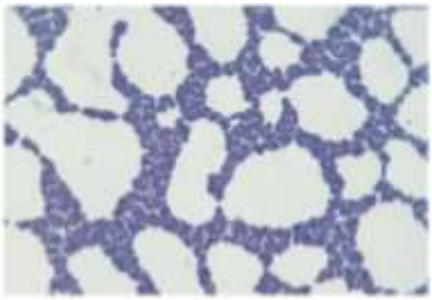
Bakteri *Staphylococcus. aureus* sebagai antigen bakteri gram positif yang dapat menyerap pewarna Giemsa dengan jelas dengan bentuknya (kokus), sehingga memudahkan dalam menghitung kapasitas fagositosis makrofag. Kapasitas makrofag dalam memfagosit bakteri juga dipengaruhi oleh peningkatan dosis yang dapat merangsang sistem imun dan meningkatkan kemampuan makrofag dalam menelan dan mencerna bakteri tersebut (Rosnizar dkk, 2017).

2.2.5 Tinjauan Bakteri

Bakteri patogen gram positif kokus meliputi kelompok seperti stafilokokus, streptokokus, dan enterokokus. Bakteri-bakteri ini memiliki bentuk bulat dan dinding sel yang tebal, terdiri dari lapisan peptidoglikan, polisakarida, asam teikoat, dan protein. Biasanya, bakteri gram positif kokus merupakan flora normal pada kulit dan selaput lendir tubuh manusia. Namun, beberapa dari kelompok ini bisa menjadi oportunistik dan menyebabkan infeksi patogenik (Apriani dkk, 2023).

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Rezeki (2021) yaitu :

Domain : Bakteri
Kingdom : Bakteri
Filum : Firmicutes
Kelas : Cocci
Ordo : Bacillales
Famili : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus* (Rezeki, 2021)



Gambar 2.7 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Umarudin dkk, 2023)

Patogenitas *Staphylococcus*, khususnya kemampuan bakteri *Staphylococcus aureus* untuk menyebabkan infeksi sangat dipengaruhi oleh keberadaan berbagai faktor virulensi. Faktor-faktor ini berperan penting dalam proses infeksi, meliputi (Umarudin dkk, 2023) :

a. Protein A: Staphylococcus aureus menghasilkan protein A yang berfungsi untuk mengikat antibodi sehingga menghambat sel darah putih untuk menelan dan memusnahkan bakteri tersebut.
b. Toksigenisitas: Beberapa strain Staphylococcus aureus bersifat toksigenik, menghasilkan toksin seperti enterotoksin dan syok staphylococcal (TSST-1) yang bertanggung jawab atas kasus keracunan makanan dan sindrom syok toksik.
c. Faktor Kolonisasi: *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan untuk melekat pada jaringan inang, suatu mekanisme yang disebut kolonisasi.
d. Enzim Lisis : *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim koagulase yang berfungsi untuk menggumpalkan darah. Gumpalan darah ini berperan sebagai pelindung bakteri dari sistem kekebalan tubuh.
e. Faktor Resistensi terhadap Antibiotik: Banyak strain *Staphylococcus aureus*, termasuk *meticillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), telah mengembangkan resistensi terhadap antibiotik, sehingga infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini sulit untuk diobati.
f. Biosurfaktan : *Staphylococcus aureus* memproduksi biosurfaktan, suatu senyawa yang memungkinkannya melekat pada permukaan inang dan membentuk biofilm sehingga sulit dihancurkan.
g. Hyaluronidase dan Lipase: Enzim-enzim ini berfungsi untuk memecah jaringan tubuh, sehingga bakteri dapat menyebar dengan lebih mudah ke bagian tubuh lainnya.

Sistem imun terhadap bakteri Staphlococcus aureus yang memicu terjadi infeksi pada hewan uji. Ketika terjadi infeksi, limfosit T akan melepaskan sinyal

kimia (limfokin) untuk menarik makrofag ke area yang terinfeksi. Makrofag yang tiba di lokasi tersebut akan diaktifkan dan melepaskan berbagai enzim penghancur serta molekul sinyal untuk melawan infeksi. Enzim-enzim seperti lisozim, elastase, dan kolagenase akan membantu membersihkan jaringan yang rusak, sementara komplemen dan sitokin akan mengaktifkan komponen sistem imun lainnya. Sitokin yang disekresikan oleh makrofag meliputi Interleukin (IL)-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, dan TNFα. Dalam keadaan normal, proses aktivasi dan fagositosis makrofag berlangsung relatif lambat, sehingga jumlah makrofag yang aktif dalam menelan bakteri juga terbatas (Wahyuni dkk, 2019).

2.2.6 Tinjauan Hewan Uji

Mencit merupakan model hewan laboratorium yang paling umum digunakan, dengan frekuensi penggunaan berkisar antara 40% hingga 80% dari semua eksperimen. Mencit merupakan model hewan yang ideal dalam penelitian biologi karena memiliki siklus hidup yang pendek, fertilitas tinggi, variabilitas genetik yang luas, dan kemudahan pemeliharaan. Sebagai hewan omnivora, mencit juga menunjukkan kesehatan dan produktivitas yang baik. Selain ukurannya yang kecil dan sifatnya yang jinak, mencit juga mudah diperoleh dengan harga yang relatif murah dan memerlukan biaya pakan yang rendah (Purwo dkk, 2018).

a. Klasifikasi mencit sebagai berikut :

Kingdom	: animalia
Filum	: chordata
Kelas	: mamalia
Ordo	: rodentia
Famili	: murinane
Genus	: *mus*
Spesies	: *mus musculus*

b. Morfologi mencit sebagai berikut :

Morfologi mencit terdiri atas kepala, badan, leher, dan ekor. Bulu mencit umumnya berwarna putih atau abu-abu, dengan bagian ventral yang lebih terang. Mencit merupakan hewan krepuskular, aktif terutama pada malam hari (Purwo dkk, 2018).

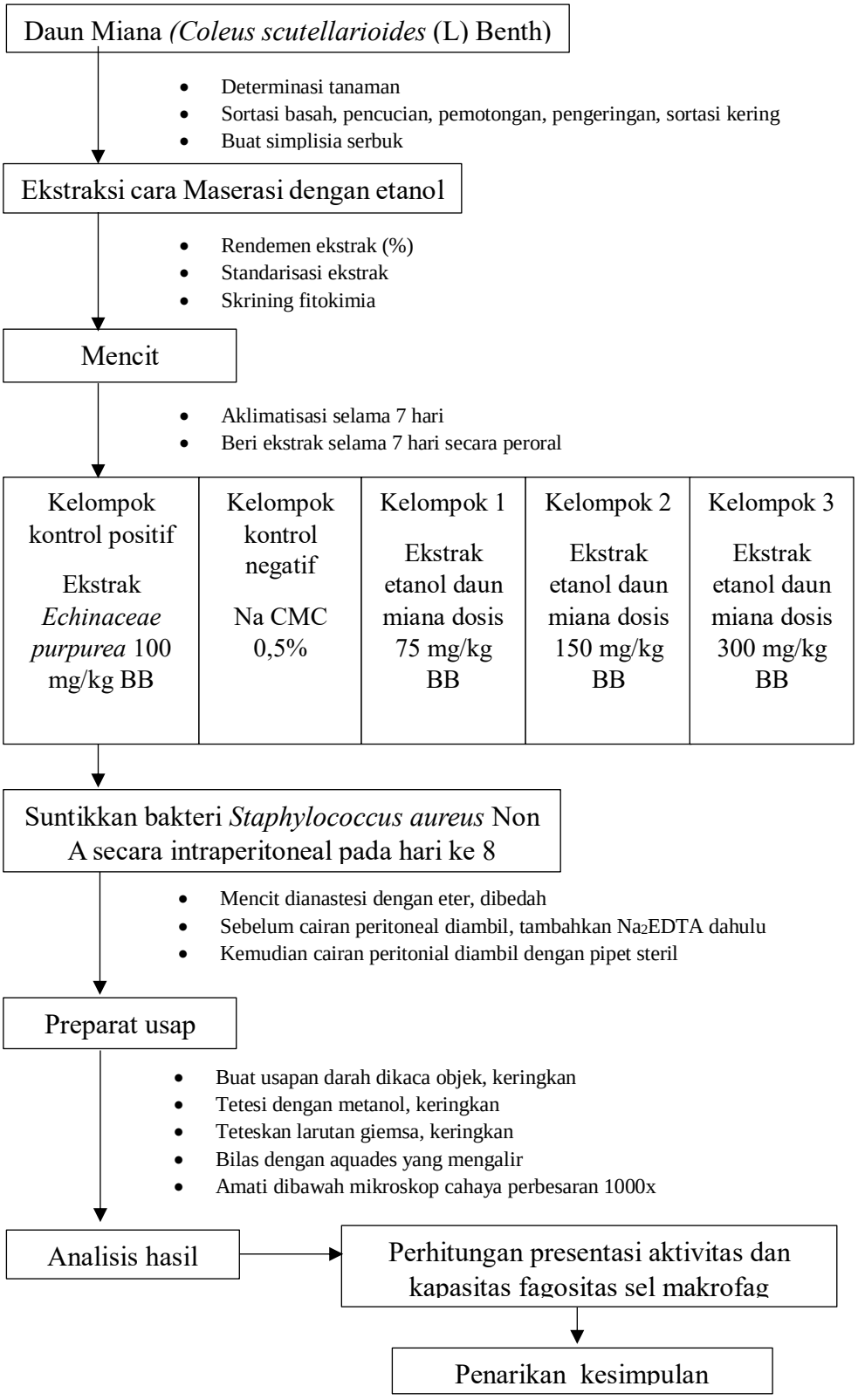
c. Karakteristik mencit sebagai berikut :

Mencit dapat hidup antara 1 hingga 2 tahun, dan kadang-kadang mencapai umur hingga 3 tahun. Mencit mencapai kematangan seksual pada usia 8 minggu. Estrus pada mencit betina berlangsung selama 4-5 hari, diikuti oleh masa kehamilan sekitar 19-21 hari. Berat badan mencit dewasa bervariasi antara 20-40 gram, dengan betina umumnya sedikit lebih berat dibandingkan jantan (Purwo dkk, 2018). Mencit (Mus musculus) telah lama menjadi model hewan yang sangat baik untuk penelitian imunologi mamalia. Galur mencit yang digunakan pada penelitian ini menggunakan galur *Deutschland Denken Yoken* (DDY). Mencit DDY memiliki aktivitas makrofag yang signifikan. Sebuah studi menunjukkan bahwa makrofag peritoneal dari mencit ddY mampu melakukan fagositosis dan membunuh bakteri Leptospira tanpa memerlukan serum antibodi atau komplemen tambahan (Isogai, E., dkk. 1986). Mencit galur DDY adalah salah satu galur mencit yang umum digunakan di laboratorium karena mudah diperoleh, memiliki tingkat reproduksi yang tinggi, dan relatif mudah dipelihara.

d. Induksi mencit dengan bakteri *Staphylococcus* Non-A

Staphylococcus aureus dipilih sebagai organisme model karena karakteristiknya yang memudahkan pengamatan mikroskopis. Bakteri ini memiliki dinding sel Gram positif yang berinteraksi kuat dengan pewarna Giemsa, menghasilkan kontras yang jelas. Selain itu, tidak adanya protein A yang bersifat antifagositik pada permukaan sel bakteri ini memudahkan studi interaksi seperti fagositosis oleh makrofag peritoneal (Wahyuni dkk, 2019). Injeksi intraperitoneal pada mencit merupakan metode yang lebih efektif untuk menginduksi infeksi sistemik dibandingkan rute lain. Hal ini dikarenakan rongga peritoneal kaya akan sel polimorfonuklear dan makrofag, yang meskipun berperan sebagai sel fagosit, juga dapat berfungsi sebagai jalur bagi patogen untuk menyebar ke organ dalam (Syachriyani dkk, 2023)

2.3 Kerangka Pemikiran



2.4 Hipotesis

1. Ekstrak daun Miana *(Coleus scutellarioides* (L) Benth) sebagai imunomodulator meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* Non A.
2. Ekstrak daun Miana *(Coleus scutellarioides* (L) Benth) sebagai imunomodulator memiliki kapasitas fagositosis sel makrofag terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* Non A.

BAB III

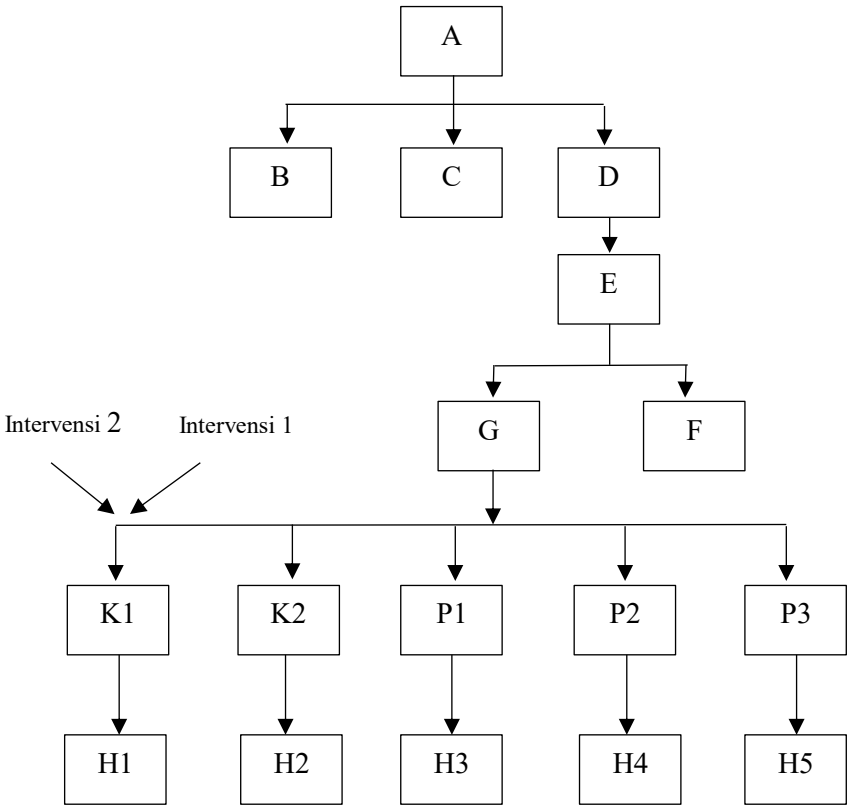
METODE PENELITIAN

3.1 Objek Penelitian

3.2.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini yaitu penelitian eksperimental laboratorik *(true experimental laboratoric)* untuk mengetahui aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag pada mencit dengan pemberian ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang memiliki aktivitas sebagai imunomodulator. Penelitian ini juga dilakukan untuk menganalisis pengaruh variasi konsentrasi dosis terhadap karakteristik imunomodulator.

3.2.2 Rancangan Penelitian



Intervensi

Intervensi 1 = Pemberian suspensi ekstrak daun miana dan *Echinacea purpurea*. Kontrol positif (K1) akan diberi intervensi suspensi *Echinacea purpurea*, sementara kelompok perlakuan (P1, P2, P3) akan diberi intervensi suspensi ekstraksi daun miana dengan dosis yang telah ditentukan.

Intervensi 2 = Bakteri *Staphylococcus aureus.* Kontrol negatif (K2) dan kelompok perlakuan (P1, P2, P3) akan diberi intervensi suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan lama yang telah ditentukan.

Keterangan :

A = Daun Miana

B = Determinasi tanaman

C = Pembuatan serbuk simplisia

D = Ekstraksi

E = Standarisasi ekstrak

F = Uji aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag

G = Nilai presentase aktivitas dan kapasitas sel makrofag

K1 = Kelompok kontrol positif

K2 = Kelompok kontrol negatif

P1 = Kelompok perlakuan 1

P2 = Kelompok perlakuan 2

P3 = Kelompok perlakuan 3

H1 = Nilai presentase aktivitas dan kapasitas sel makrofag 1

H2 = Nilai presentase aktivitas dan kapasitas sel malrofag 2

H3 = Nilai presentase aktivitas dan kapasitas sel malrofag 3

H4 = Nilai presentase aktivitas dan kapasitas sel malrofag 4

H5 = Nilai presentase aktivitas dan kapasitas sel malrofag 5

3.2.3 Objek Penelitian

Ruang lingkup dari objek penelitian ilmiah ini berfokus pada pengujian aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag ekstrak daun miana (*Coleus*

scutellarioides L. Benth) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus.* Setelah pengujian ekstrak, kemudian diujikan secara in vivo kepada mencit.

3.2.4 Alat dan Bahan

1. Alat
   a) Peralatan untuk ekstraksi: bejana maserasi, kertas saring, neraca analitik, blander, *aluminium foil*, oven, batang pengaduk dan *rotary evaporator.*
   b) Peralatan untuk standarisasi dan skrining fitokimia : neraca analitik, batang pengaduk, krus silikat, tanur pembakaran, kertas saring, gelas beker, hot plate, tabung reaksi, rak tabung, pipet tetes dan vortex.
   c) Peralatan untuk uji aktivitas dan kapasitas fagositosis ekstrak : mikroskop, pipet, kaca preparat, Haemocytometer.
   d) Peralatan untuk hewan uji : kandang, alat minum, spuit peroral, syringe, sonde

2. Bahan
   a) Bahan untuk ekstraksi : simplisia daun miana *Coleus scutellarioides* L. Benth) dan etanol 96%.
   b) Bahan untuk standarisasi dan skrining fitokimia : ekstrak etanol Daun Stroberi, aquades, serbuk Mg, larutan HCl pekat, pereaksi $FeCl_3$, kloroform, amoniak, larutan H_2SO_4 pekat, pereaksi Mayer, Dragendorff dan Bouchard, CH_3COOH glasial, larutan $FeCl_3$ 10% dan larutan HCl 1 N.
   c) Bahan untuk uji aktivitas dan kapasitas fagositosis ekstrak : bakteri *Staphylococcus aureus*, larutan Giemsa, larutan Na_2EDTA, metanol, aquadest, eter.
   d) Bahan untuk hewan uji : mencit putih jantan dengan berat 20-30 gram dan pakan mencit

3.2.5 Variabel Penelitian

a. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu variasi konsentrasi dosis dalam menginduksi mencit ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth).

b. Variabel kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini yaitu daun miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth) dan bakteri *Staphylococcus aureus.*

c. Variabel tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini yaitu pengujian aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* meliputi total sel serta jenis sel leukosit, presentase aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag.

3.2 Metode Pengumpulan Data

Pengambilan data dilakukan dengan metode eksperimental di Laboratorium Farmakologi dan Fitokimia, Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Teknologi Farmasi Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Farmasi Universitas Gunadarma, Depok, Jawa Barat. Data diambil melalui serangkaian uji aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag pada mencit pemberian ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth) terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode hapusan darah dan uji aktivitas dan kapasitas meliputi total sel dan jenis sel leukosit, presentasi aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag.

Prepararasi sampel daun Miana diperoleh dari taman budidaya UG-*Techno Park*, Desa Jamali-Mulyasari, Kecamatan Mande, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat dan dideterminasi di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Jl. Raya Jakarta-Bogor No.32, Pakansari, Kec. Cibinong, Kabupaten Bogor, Jawa Barat 16915.

3.3 Langkah Kerja

3.3.1 Ekstraksi

a. Preparasi simplisia daun Miana

1) Pertama-tama daun miana disortasi basah dari kotoran yang melekat dengan cara dicuci dibawah air mengalir.
2) Daun miana yang telah bersih ditiriskan dan diangin-anginkan.
3) Daun miana dirajang hingga beberapa bagian kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven suhu 50°C selama 10 jam.
4) Daun miana yang telah kering dilakukan sortasi kering untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel atau bagian simplisia yang kualitasnya kurang baik.
5) Dihaluskan simplisia daun miana dengan menggunakan blender selama 5 menit kemudian serbuknya diayak mengunakan alat pengayak dengan nomor mesh ukuran 40.
6) Simplisia daun miana disimpan pada wadah tertutup rapat kemudian diberi silika gel.

b. Ekstraksi simplisia daun Miana
1) Simplisia daun miana (*Coleus scutellarioides* L. *Benth*) sebanyak 500 g dimasukkan kedalam bejana maserasi berbahan dasar kaca.
2) Ditambahkan pelarut ke dalam bejana maserasi yang telah sesuai dengan tingkat kelarutan sampel dengan etanol 96% perbandingan 1:3 yaitu sebanyak 1.500 ml.
3) Simplisia direndam dengan pelarut selama 3 (tiga) hari x 24 jam kemudian hasil maserasi I disaring menggunakan kertas saring sehingga didapatkan hasil ekstrak cair dan residu.
4) Hasil residu dilakukan proses maserasi II dengan pelarut etanol 96% selama 3 hari dan disaring sehingga didapatkan hasil ekstrak cair dan residu.
5) Hasil residu dilakukan proses maserasi III dengan pelarut etanol 96% selama 3 hari dan disaring sehingga didapatkan hasil ekstrak cair dan residu.
6) Filtrat yang diperoleh dari ketiga tahap maserasi dikonsentrasikan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak dalam bentuk kental.

3.3.2 Standarisasi Ekstrak

3.3.2.1 Penetapan parameter spesifik

1. Organoleptik

   Melalui pengamatan organ sensorik (panca indera), kita dapat melakukan deskripsi kualitatif terhadap karakteristik fisik suatu objek, meliputi bentuk, bau, warna, rasa, dan ukuran (Maryam dkk, 2020).

2. Skrining Fitokimia (Artantyo dkk, 2022) :

   (i). Senyawa flavonoid

   1) Sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol daun miana dipanaskan dengan 5 mL etanol selama 5 menit.
   2) Setelah pemanasan, larutan dalam tabung reaksi diasamkan dengan penambahan beberapa tetes asam klorida pekat. Selanjutnya, 0,2 gram serbuk magnesium ditambahkan ke dalam campuran tersebut.
   3) Terbentuknya warna merah bata, kuning, atau jingga merupakan indikasi positif adanya senyawa flavonoid.

   (ii). Senyawa alkaloid

   1) 0,5 g ekstrak daun miana ditempatkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL kloroform ($CHCl_3$) dan 10 mL amonia (NH_3).
   2) Selanjutnya, 10 tetes asam sulfat (H_2SO_4) 2 M ditambahkan untuk memperjelas batasan antara kedua fase. Campuran dikocok dan dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan. Fase atas diambil dan dipindahkan ke dalam tiga tabung reaksi, masing-masing berisi 2,5 mL.
   3) Kemudian, setiap sampel diuji dengan pereaksi Mayer, Dragendorff, dan Wagner. Adanya alkaloid dapat diidentifikasi berdasarkan pembentukan endapan putih dengan pereaksi Mayer, endapan merah jingga dengan pereaksi Dragendorff, dan endapan coklat dengan pereaksi Wagner.

   (iii). Senyawa steroid dan triterpenoid

1) 0,5 g ekstrak etanol daun miana dilarutkan dengan 1 mL kloroform ($CHCl_3$) dan kemudian dikocok.
2) Selanjutnya, 2 tetes asetat anhidrat ($C_4H_6O_3$) dan 2 tetes asam sulfat (H_2SO_4) pekat ditambahkan. Campuran ini dikocok perlahan dan didiamkan selama beberapa menit.
3) Adanya steroid ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi biru atau hijau, sedangkan keberadaan triterpenoid ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi merah atau ungu.

(iv). Senyawa saponin

1) 0,5 g ekstrak etanol daun miana dilarutkan dengan 10 mL aquadest, kemudian homogenkan selama kurang lebih 1 menit.
2) Selanjutnya, larutan didiamkan selama 10 menit, dan amatibuih atau busa yang terbentuk.
3) Senyawa saponin dinyatakan positif dalam sampel ditunjukkan oleh buih yang tetap stabil selama 10 menit.

(v). Senyawa tanin

1) 0,5 g ekstrak etanol daun miana ditempatkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 mL air panas dan beri beberapa tetes besi (III) klorida ($FeCl_3$).
2) Keberadaan tannin dalam sampel ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau kebiruan.

3.3.2.2 Penetapan parameter non spesifik

1. Susut pengeringan
   1) 1 g ekstrak ditimbang dan dimasukkan ke dalam krus porselin yang telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan ditara.
   2) Ekstrak disebar merata dalam krus porselin hingga membentuk lapisan setebal 5-10 mm. Kemudian, krus dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C sampai mencapai berat konstan.
   3) Selanjutnya, krus porselin dipindahkan ke dalam desikator untuk didinginkan. Proses pengeringan dilakukan berulang kali hingga diperoleh bobot konstan. (Maryam dkk, 2020).

2. Kadar abu
    1) 1 g ekstrak yang telah ditimbang dan dimasukkan ke dalam cawan porselin yang telah dipanaskan dan ditimbang sebelumnya.
    2) Cawan porselin dipanaskan pada suhu tinggi di dalam tanur hingga mencapai 600°C, sampai seluruh arang terbakar habis.
    3) Selanjutnya proses pemijaran selesai, cawan porselin didinginkan dalam desikator dan ditimbang ulang hingga beratnya stabil (Maryam dkk, 2020)
3. Kadar air
    1) Penetapan kadar air menggunakan metode gravimetri dilakukan dengan menimbang 1 g ekstrak yang dimasukkan ke dalam wadah.
    2) Ekstrak kemudian dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam.
    3) Pengeringan diteruskan hingga beratnya mencapai kestabilan, yang ditdkk,ai dengan perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak melebihi 0,25% (Maryam dkk, 2020).
4. Bobot jenis
    1) Bobot jenis ekstrak diukur dengan menggunakan pengenceran ekstrak 5% dalam pelarut etanol dan alat piknometer. Piknometer yang digunakan harus dalam kondisi kering, bersih, dan telah dikalibrasi.
    2) Pertama-tama, bobot piknometer dan bobot air yang baru dididihkan pada suhu 25°C ditimbang (W1).
    3) Kemudian, ekstrak cair yang suhunya telah disesuaikan sekitar 20°C dimasukkan ke dalam piknometer kosong.
    4) Kelebihan ekstrak dikeluarkan, dan suhu piknometer diatur hingga 25°C sebelum ditimbang kembali (W2) (Maryam dkk, 2020).

3.3.3 Persiapan Uji Kapasitas dan Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag Mencit

3.3.3.1 Persiapan hewan uji

- Subjek penelitian ini adalah 25 ekor mencit putih jantan strain DDY, berusia 2-3 bulan dan berbobot 20-30 g.

- Mencit dibagi secara acak menjadi 5 kelompok perlakuan. Sebelum percobaan, semua mencit diaklimatisasi selama satu minggu untuk memastikan kondisi fisik dan psikologis yang optimal.
- Kriteria pemilihan mencit adalah sehat, tidak mengalami penurunan berat badan yang signifikan, dan menunjukkan perilaku normal. (Rezeki, 2021).
- Aklimatisasi dilakukan selama tujuh hari, di mana selama periode ini hewan percobaan hanya diberikan makan dan minum (Prakarsa dkk, 2024).

3.3.3.2 Dosis yang digunakan

- Sebanyak 25 ekor mencit dibagi menjadi lima kelompok perlakuan.
- Kelompok kontrol negatif diberikan Na CMC, kelompok kontrol positif diberikan ekstrak Echinacea purpurea.
- Sedangkan tiga kelompok perlakuan lainnya diberikan ekstrak etanol daun miana dengan tiga variasi dosis, yaitu 357 mg/kg berat badan, 714 mg/kg berat badan, dan 1428 mg/kg berat badan. Dosis-dosis ini merupakan dosis eksperimental yang akan diteliti efektivitasnya (Rezeki, 2021).

3.3.3.3 Pembuatan Sediaan (Rezeki, 2021)

1) Pembuatan suspensi kontrol positif
    - Suspensi *Echinacea purpurea* (Imboost Kid's) disiapkan dengan mencampurkan aqudest sebanyak 50 mL.
    - Diencerkan dan homogenkan. Echinacea purpurea diketahui sebagai obat imunos herbal yang terstandarisasi secara Interrnasional diIndonesia (EFLA 894) yang berfungsi dengan meningkatkan fagositosis dan merangsang makrofag untuk memproduksi sitokin, sehingga membantu melawan infeksi virus dan bakteri. Secara klinis, E. purpurea efektif dalam menangani penyakit ringan seperti flu biasa (Gresinta, 2019)
2) Pembuatan suspensi kontrol negatif

- Sebanyak 0,5 g Na CMC ditimbang, lalu ditaburkan diatas air panas didalam lumpang panas, dibiarkan mengembang selama 15 menit.
- Setelah itu, campurkan hingga menjadi massa yang homogen dan diencerkan dengan aquadest hingga mencapai volume yaitu 100mL.

3) Pembuatan suspensi sediaan ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth)
   - Suspensi ekstrak daun miana dibuat dengan cara melarutkan 0,5 gram Na CMC dalam air panas. Dalam suspensi ini, Na CMC ditambahkan sebagai pengental dan penstabil. Dilihat dari sifatnya, Na CMC membuat gel lebih kental dan bersifat inert, karena berperan sebagai bahan pengikat, stabilisator, suspensi agent, gelling agent, dan film former (Sawiji dkk., 2020).
   - Setelah larutan Na CMC terbentuk, ekstrak etanol daun miana ditambahkan sesuai dosis yang telah ditentukan dan digerus hingga tercampur hingga homogen.
   - Terakhir, campuran tersebut diencerkan dengan aquadest hingga mencapai volume akhir 100 mL.
4) Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*
   - Kultur murni *Staphylococcus aureus* diinokulasi pada Nutrient Agar (NA) dan diinkubasi pada suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri.
   - Inokulasikan kultur bakteri *SA* sebanyak satu ose ke dalam media NA miring dan diinkubasi pada suhu 37°C.
   - Selanjutnya, kultur disentrifugasi pada 5000 rpm selama 15 menit untuk membentuk pellet, yang kemudian disuspensikan dalam NaCl fisiologis 0,9%.
   - Suspensi ini dibandingkan dengan larutan McFarland 0,5.
   - Untuk membuat larutan standar McFarland campurkan 9,95 mL larutan H_2SO_4 1% dengan 0,5 mL larutan $BaCl_2$ 1%, sehingga menghasilkan larutan yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU (koloni/mL).

3.3.3.4 Penentuan Hewan Uji

Dalam penelitian ini menggunakan hewan uji mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan membaginya menjadi 5 kelompok. Pemilihan hewan uji dihitung dengan menggunakan rumus Federer sebagai berikut (Fadhilah, 2022) :

$$(t-1)\,(r-1) \geq 15$$

$$(5\text{-}1)\,(r\text{-}1) \geq 15$$

$$4\,(r\text{-}1) \geq 15$$

$$r\text{ -}1 \geq 3{,}75$$

$$r \geq 4{,}75$$

$$r \sim 5$$

Setelah mendapatkan **r = 5**, kita dapat menghitung **n** (jumlah total hewan uji) sebagai berikut:

$$n = t \times r = 5 \times 5 = 25$$

Jadi, jumlah hewan uji yang digunakan sebanyak 25 ekor mencit

Keterangan : t = jumlah perlakuan

r = jumlah replikasi

n = jumlah hewan uji

3.3.3.5 Penentuan Dosis Ekstrak Daun Miana

- Dosis ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* L. *Benth*) untuk imunomodulator pada tikus adalah 510 mg/KgBB (Amsyah dkk, 2019)**.**
- Dosis ekstrak untuk tikus 200 gram

  $\frac{200}{1000} x\ 510\ mg =$ 102 mg/ 200 gr
- Konversi dari tikus 200 gram ke mencit 20 gram = 0,14
- Mencit 20 gr = 102 mg x 0,14 = 14,28 mg/20 gram mencit
- Untuk 1 kg BB mencit = 1000/20 x 14,28 = 714 mg/kgBB mencit

Variasi Dosis

- Dosis I

  Dosis untuk mencit 20 gram = 14,28 mg/2 = 7,14 mg

  Dosis untuk 1 kg BB mencit = 1000/20 x 7,14mg = 357 mg/kgBB mencit

- Dosis II

  Dosis untuk mencit 20 gram = 14,28 mg

  Dosis untuk 1 kg BB mencit = 1000/20 x 14,28 mg = 714 mg/ kgBB mencit

- Dosis III

  Dosis untuk mencit 20 gram = 2 x 14,28 mg = 28,56 mg

  Dosis untuk 1 kg BB mencit = 1000/20 x 28,56 mg = 1428 mg/ kgBB mencit

Perhitungan Dosis suspensi rutin 20 mg/kg BB

$$\frac{20\ mg}{1000} x\ 20 = 0{,}4\ mg$$

- Untuk mencit bobot 20 gram volume yang diberikan adalah 0,2 ml berdasarkan VOA 1%
- Untuk 6 ekor mencit maka dibutuhkan 0,2 ml x 6 = 1,2 ml/hari

  Pembuatan larutan stok : V1 x M1 = V2 x M2
- Maka, perhitungan sebagai berikut :

$$5\ ml\ x\ 0{,}4\ mg = 0{,}2\ ml\ x\ M2$$

$$M2 = \frac{5\ x\ 0{,}4}{0{,}2} = 10\ mg$$

- Maka dilarutkan 10 mg rutin dalam 5 ml larutan Na CMC 0,5%.

3.3.3.6 Perlakuan terhadap Hewan Uji

Dilakukan randomisasi terhadap 25 ekor mencit ke dalam 5 kelompok perlakuan, dengan setiap kelompok terdiri dari 5 replikasi, sebagai berikut :

1) Kelompok kontrol negatif : diberikan suspensi Na CMC 0,5%
2) Kelompok kontrol posiif : diberikan suspensi *Echinacea purpurea* 0,065% .
3) Kelompok 1 : diberikan suspensi ekstrak dengan dosis 375mg/KgBB

4) Kelompok 2 : diberikan suspensi ekstrak dengan dosis 714mg/KgBB
5) Kelompok 3 : diberikan suspensi ekstrak dengan dosis 1428mg/KgBB.

1. Selama periode dari hari ke-1 hingga ke-7, kelompok kontrol negatif diberikan suspensi Na CMC, kelompok kontrol negatif diberikan suspensi *Echinacea purpurea*, sementara kelompok 1, 2, dan 3 masing-masing menerima suspensi ekstrak etanol daun miana dengan dosis yang berbeda melalui pemberian oral (Rezeki, 2021).
2. Pada hari ke-8, setiap mencit dari masing-masing kelompok diinjeksikan secara intraperitoneal dengan 0,2 ml suspensi *Staphylococcus aureus* dan dibiarkan selama 1 jam.
3. Kemudian diambil cairan peritoneal nya di bagian peritoneum. Kemudian ditentukan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag setiap mencit tersebut (Syachriyani dkk, 2023)

3.3.4 Uji In Vivo Imunomodulator

3.3.4.1 Pemeliharaan Hewan Coba

1. Mencit (Mus musculus) galur Deutchland Denken Yoken (DDY) jantan diaklimatisasi selama 7 hari.
2. Pemberian makan dan minum dua kali sehari, pagi dan sore ad libitum.
3. Penggantian serbuk kayu sebagai alas kandang setiap 3 hari.
4. Suhu ruangan pemeliharaan antara 20-25 °C.
5. Pencahayaan cukup pada siang hari, kondisi gelap pada malam hari.
6. Perbandingan waktu terang dan gelap 12:12.

3.3.4.2 Pembuatan Suspensi Na-CMC 1%

1. 1 g Na-CMC dipanaskan dalam 100 mL aquadest hingga mencapai suhu 70 °C.
2. Setelah suhu mencapai 70 °C, penambahan 1 g Na-CMC sedikit demi sedikit ke dalam aquadest.
3. Sambil menambahkan Na-CMC, pengadukan larutan terus-menerus menggunakan magnetic stirrer.

3.3.4.3 Pembuatan Suspensi Ekstrak Daun Miana

1. Ekstrak daun Miana disiapkan dalam larutan Na-CMC 1 %, dengan dosis 357 mg/kgBB, 714 mg/kgBB, dan 1428 mg/kgBB
2. Lalu didispersikan dalam 10 mL suspensi Na-CMC 1 %
3. Setelah homogen, suspensi Na-CMC 1 % ditambahkan hingga mencapai total volume 20 mL.

3.3.4.4 Pembuatan Suspensi Rutin

1. Senyawa rutin disiapkan dalam larutan Na-CMC 1 %, dengan dosis 20 mg/kg BB
2. Lalu didispersikan dalam 10 mL suspensi Na-CMC 1 %
3. Setelah homogen, suspensi Na-CMC 1 % ditambahkan hingga mencapai total volume 20 mL.

3.3.4.5 Perlakuan Terhadap Hewan Coba

1. Sebelum perlakuan, bobot badan (BB) hewan coba diukur untuk menghitung dosis ekstrak per ekor hewan coba. Pengukuran BB hewan coba dilakukan setiap hari dan dicatat.
2. Aklimatisasi dilakukan selama tujuh hari, di mana selama periode ini hewan percobaan hanya diberikan makan dan minum
3. Hewan coba kemudian diberikan suspensi ekstrak daun Miana secara oral menggunakan sonde pada kelompok P1, P2, P3 dengan dosis yang sudah ditentukan yaitu dosis ekstrak 357 mg/kg BB, 714 mg/kg BB, dan 1428 mg/kg BB selama 7 hari.

3.3.4.6 Penentuan total sel leukosit dengan Haemocytometer

1. Pada hari kedelapan, dilakukan vasodilatasi vena ekor mencit dengan cara membasahi ekor menggunakan etanol.
2. Selanjutnya, ujung vena ekor dipotong untuk mengambil darah segar yang kemudian dikoleksi dalam tabung berisi EDTA. Darah dalam tabung EDTA diencerkan dengan larutan Turk menggunakan pipet leukosit, kemudian dilakukan pengocokan dan pengisian kamar hitung.
3. Setelah didiamkan selama 2 menit, dilakukan penghitungan jumlah total leukosit pada keempat sudut kamar hitung.

3.3.4.7 Penetuan jumlah jenis sel leukosit dengan metode hapusan darah

1. Satu tetes darah segar dari tabung EDTA diteteskan pada objek glass dan dibuat hapusan darah.
2. Hapusan darah yang telah dibuat kemudian difiksasi dengan metanol seluruh permukaannya tertutup, dan biarkan selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan pewarna Giemsa lalu biarkan selama 20 menit.
3. Setelah proses pewarnaan, hapusan darah dicuci, dikeringkan, tambahkan minyak emersi dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Dilakukan penghitungan diferensial leukosit, yaitu eosinofil, basofil, neutrofil, limfosit, dan monosit.

3.3.4.8 Penentuan presentase aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag

1. Setelah dilakukan penghitungan diferensial leukosit, mencit dari masing-masing kelompok diinokulasi secara intraperitoneal dengan suspensi Staphylococcus aureus dalam NaCl 0,9%.
2. Satu jam setelah inokulasi, mencit dilakukan euthanasia. Kemudian mencit dibedah dan dilakukan pengambilan cairan peritoneal.
3. Cairan peritoneal yang telah ditambahkan Na2EDTA kemudian dibuat preparat apusan dan difiksasi dengan metanol.
4. Preparat apusan selanjutnya diwarnai dengan pewarnaan Giemsa selama 20 menit, dibilas dengan air mengalir, dan dikeringkan.
5. Preparat apusan yang telah kering diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x menggunakan minyak imersi.
6. Dilakukan penghitungan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag. Aktivitas fagositosis dihitung berdasarkan persentase sel makrofag yang menunjukkan adanya proses fagositosis dari total 100 sel makrofag yang diamati.
7. Sementara itu, kapasitas fagositosis dihitung berdasarkan rata-rata jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* yang difagositosis oleh 50 sel makrofag yang aktif

3.3.4.9 Mengorbankan Hewan Coba (Euthanasia)

1. Hewan coba dikorbankan dengan injeksi kombinasi ketamin-xylazine. Sebelum perlakuan, bobot badan hewan diukur untuk menentukan dosis.

2. Hewan coba diinjeksi dengan kombinasi ketamin-xylazine secara intramuskular (IM) pada paha atau punggung.
3. Konfirmasi kematian dilakukan dengan memastikan tidak ada refleks kornea, respons terhadap rangsangan, serta menghentinya denyut jantung.
4. Hewan yang telah dieuthanasia dikubur pada kedalaman minimal 1,2 meter untuk mencegah pemangsa menggali kembali. Lokasi penguburan dipilih jauh dari sumber air tanah guna mencegah kontaminasi serta dampak lingkungan.

3.4 Metode Analisis Data

Penelitian ini menghasilkan data berupa total sel dan macam-macam sel leukosit, presentase aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag dimana data tersebut dilakukan analisis dengan metode uji One-way (analisa varian satu arah) Anova menggunakan program SPSS for windows dengan tingkat kepercayaan 95% dan nilai makna p> 0.05 kemudian dilanjut dengan uji post-hoc menggunakan metode Tukry untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak yang satu dengan lainnya pada uji aktivitas dan kapasitas fagositosis.

Tujuan dari adanya analisis statistik dengan metode One-way Anova terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis yaitu untuk menentukan pengaruh yang sangat signifikan pada pertumbuhan *Staphylococcus aureus* setelah adanya perlakuan pada kelompok kontrol Na CMC, kelompok positif *Echinacea purpurea* (Imboost Kid's) dan beberapa konsentrasi ekstrak. Menggunakan analisis dengan metode uji One-way Anova menggunakan program *Statistical Products and Solution Services* (SPSS)

3.5 Waktu dan Tempat Penelitian

3.5.1. Waktu Penelitian

Perkiraan waktu untuk melakukan penelitian ini sekitar 5 bulan dari bulan Maret 2025 sampai Juli 2025

3.5.2. Tempat Penelitian

Tabel 3. 1 Tempat penelitian

No	Jenis Kegiatan	Tujuan
1.	Determinasi tanaman daun miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth)	Herbarium Depokensis (UIDEP) Universitas Indonesia, Depok Departemen Biologi FMIPA UI
2.	Pembuatan simplisia serbuk daun miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth) dan evaporasi ekstrak cair	UG Techno Park, Desa Jamali-Mulyasari, Kecamatan Mande, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat, 43292.
3.	Ekstraksi, standarisasi, dan skrining fitokimia daun miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth)	Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Farmasi Universitas Gunadarma, Depok, Jawa Barat
4.	Uji Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Mencit (Mus Musculus) dengan Pemberian Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth)	Laboratorium Farmakologi Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Farmasi Universitas Gunadarma, Depok, Jawa Barat
5.	Uji Aktivitas Ddan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Mencit (Mus Musculus) dengan Pemberian Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*	Laboratorium Farmakologi Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Farmasi Universitas Gunadarma, Depok, Jawa Barat

DAFTAR PUSTAKA

1. Agnesa, O. S., Susilo, H., & Lestari, S. R. (2017). Aktivitas imunostimulan ekstrak bawang putih tunggal pada mencit yang diinduksi Escherichia coli. *Pharmaciana*, *7*(1), 105. https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v7i1.6007
2. Aji, N. P., Noviyanty, Y., & Fahlevi, R. (2023). Skrining Fitokimia dan profil KLT metabolit sekunder dari Ekstrak Etanol Daun Miana (Coleus scutellarioides Benth) Phytochemical screaening and TLC profile of secondary Metabolites from the Ethanol Extract of Miana (Coleus scutellarioides Benth). *Jurnal Farmasi Malahayati*, *6*(2), 149–157.
3. Akib, A. A., Munasir, Z., & Kurniati, N. (2008). *Buku Ajar Alergi Imunologi Anak* (Edisi II). Balai Penerbit IDAI.
4. Alviola Bani, A., Amin, A., Mun'im, A., & Radji, M. (2023). Rasio Nilai Rendamen Dan Lama Ekstraksi Maserat Etanol Daging Buah Burahol *(Stelecocharpus Burahol)* Berdasarkan Cara Preparasi Simplisia. *Makassar Natural Product Journal*, *1*(3), 2023–2176. https://journal.farmasi.umi.ac.id/index.php/mnpj
5. Amsyah, U. K., Hatta, M., Tahir, H., Alam, G., & Asmawati, A. (2019). Expression of IL-10 in A.actinomycetemcomitans induced rat treated by Purple Miana Leaves. *Biomedical and Pharmacology Journal*, *12*(4), 2099–2104. https://doi.org/10.13005/bpj/1845
6. Anita, A., Basarang, M., & Rahmawati, R. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Miana *(Coleus atropurpureus)* Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, *10*(1), 72. https://doi.org/10.32382/mak.v10i1.1040
7. Apriani, Bintari, N. W. D., Ilsan, N. ., Istyanto, F., Suhartati, R., Dewi, R. ., Zuraida, Herlina, Inggraini, M., Pratami, S., Nur, J., Setiawan, D., Wijayanti, D. ., & Safari, F. . (2023). *Bakteriologi Untuk Mahasiswa Kesehatan* (Apriani (ed.)). PT.Masagena Mandiri Medica.
8. Arel, A. A., Basri, B., Syafah, L., Rahmawati, R. A., Susiloningrum, D., Islamiyati, R., Sari, Dessy Erliani Mugita Sariapt. Christiandari, H.,

Purwaningsih, H., Suprasetya, E., Hernawan, J. Y., Kusmayadi, A., Wibowo, T. S., Sugiarti, L., & Ningsih, W. (2023). *Buku Ajar Teknologi Bahan Alam*.

9. Artantyo, L. D. ., Fatimawali, & Datu, O. S. (2022). Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Miana Merah *(Coleus Hybridus)* Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT*). *Pharmacon Universitas Sam Ratulangi*, *11*(3), 1618–1628.
10. Baratawidjaja, K. G., & Rengganis, I. (2009). *Imunologi Dasar* (FKUI (ed.); 8th ed.). Balai Penerbit, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
11. Basir, B., Isnansetyo, A., Istiqomah, I., Bin, F., & Jabbar, A. (2020). Toksisitas Daun Miana (Coleus scutellarioides (L) Benth) Sebagai Antibakteri Pada Udang Vannamei (Litopenaeus vannamei). *Journal of Fisheries and Marine Science . SIGANUS*, *2*(1).
12. Benjamin, S. G., Yudistira, A., & Rotinsulu, H. (2020). Uji Efek Antipiretik Ekstrak Etanol Daun Miana(Coleus Scutellarioides [L]) Benth Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (Rattus Norvegicus). *Pharmacon*, *9*(1), 55. https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.27410
13. BPOM. (2021). Peraturan badan pengawas obat dan makanan nomor 18 tahun 2021 tentang pedoman uji farmakodinamik praklinik obat tradisional. *Badan Pengawas Obat Dan Makanan RI*, *1*, 15–24.
14. Cologne, G. I. for Q. and E. in H. C. (IQWiG). (2006). *In brief: The innate and adaptive immune systems*. National Library of Medicine. https://doi.org/NBK279396
15. Depkes RI. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*, 13–37. https://drive.google.com/file/d/1QCUzGONwChXw0tYflGqfDclK3DmhJRtn/view
16. Fadhilah, N. N., Agustien, G. S., & Rizkuloh, L. R. (2022). Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Katuk (Breynia androgyna (L .)) pada Mencit Putih dengan Metode Transit Intestinal. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, *3*(2), 331–340.

17. Fatimawali, Kepel, B. J., & Bodhi, W. (2020). Standarisasi Parameter Spesifik dan Non-Spesifik Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (Alpinia Purpurata K. Schum) sebagai Obat Antibakteri. *Jurnal EBiomedik.*, *8*(1), 63–67. https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/ebiomedik
18. Fithra, D. E., Dwitya, E., Elfi, & Eka. (2021). Imunologi dan Infeksi. In *andalas University Press* (Vol. 5, Issue 3).
19. Gresinta, E. (2019). Uji Potensi Ekstrak Daun Etlingera hemisphaerica Terhadap Jumlah Leukosit Mus musculus. *Simposium Nasional Ilmiah*, *November*, 978–623. https://doi.org/10.30998/simponi.v0i0.476
20. Isogai, E., Kitagawa, H., Isogai, H., Kurebayashi, Y., & Ito, N. (1986). *Phagocytosis as a defense mechanism against infection with leptospiras. Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Series A: Medical Microbiology, Infectious Diseases, Virology, Parasitology*, *261*(1), 65-74.
21. Kemenkes RI. (2022). Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Menular. *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*, *3*(July), 1–119. http://download.garuda.kemdikbud.go.id/article.php?article=2652619&val=24585&title=KLASIFIKASI PNEUMONIA MENGGUNAKAN METODE SUPPORT VECTOR MACHINE
22. Khotimah, H., Agustina, R., & Ardana, M. (2018). Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Miana (Coleus atropurpureus L. Benth). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, *8*(November 2018), 1–7. https://doi.org/10.25026/mpc.v8i1.295
23. Listiani, N., & Susilawati, Y. (2019). Potensi Tumbuhan Sebagai Immunostimulan. *Farmaka*, *17*(2), 1–15.
24. Marlina, R., Hatta, M., Sridiana, E., Djaharuddin, I., Patellongi, I., & Murtiani, F. (2021). The effect of miana (coleus scutellariodes [L]) on vascular endothelial growth factor expression in Balb/C mice infected with mycobacterium tuberculosis. *Biomedical and Pharmacology Journal*, *14*(2), 525–532. https://doi.org/10.13005/bpj/2154

25. Maryam, F., Taebe, B., & Toding, D. P. (2020). Pengukuran Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Matoa (Pometia pinnata J.R & G.Forst). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, *6*(01), 1–12. https://doi.org/10.35311/jmpi.v6i01.39
26. Pakadang, S R, Jumain, J., Ratnah, S., & Salasa, A. . (2021). Characteristicsof Chemical Compound Content in Meniran Herb Extract and Miana Leave Extract Based On Phytochemical Screening and Thin Layer Chromatogpraphy. *Urban Health*, *3*(1), 127–137. http://journal.poltekkes mks.ac.id/ojs2/index.php/Prosiding/article/view/2480%0Ahttp://journal.poltekkes-mks.ac.id/ojs2/index.php/Prosiding/article/download/2480/1716
27. Pakadang, Sesilia Rante, Ratnah, S., Salasa, A. M., Jumain, & Hatta, M. (2022). Toll Like Receptor 4 Expression Profile in Mice Infected Mycobacterium Tuberculosis Given with Miana Leaves Extract (Coleus scutellarioides (L.) Benth) (Tuberculosis Preventive and Curative Mechanisms). *Pharmacognosy Journal*, *14*(3), 497–505. https://doi.org/10.5530/pj.2022.14.63
28. Pakadang, Sesilia Rante, & Salim, H. (2019). Kombinasi Daun Miana (Coleus scutellarioides (L.) Benth) dan Rimpang Jahe (Zingiber officinale Rosc.) sebagai antibakteri Streptococcus pneumonia, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Klebsiella pneumonia Penyebab Batuk. *Media Farmasi*, *XV*(1), 1825–1831. https://doi.org/10.32382/mf.v15i1.779
29. Palette, T., Hatta, M., As'ad C, S., & Alam, G. (2017). Effect of Purple Miana Leaf (Coleus Scutellorioide (L) Benth) from Tana Toraja District on IL-10 mRNA Expression in Mice Induced Mycobacterium Tuberculosis. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research (IJSBAR) International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, *34*(1), 111–115. http://gssrr.org/index.php?journal=JournalOfBasicAndApplied
30. Perdana, P. R. (2022). Review: Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Herba Meniran *(Phyllanthus niruri* L.). *Jurnal Farmagazine*, *9*(1), 50.

https://doi.org/10.47653/farm.v9i1.545

31. Prakarsa, C. P., Bodhi, W., & Datu, O. S. (2024). Uji Aktivitas Fagositosis Makrofaag Ekstrak Tanaman Gedi Abelmoschus Manihot (L) Sebagai Imunomodulator. *Pharmacon*, *13*(1), 419–430. https://doi.org/10.35799/pha.13.2024.49698
32. Purwo et al. (2018). Ovariektomi Pada Tikus Dan Mencit. In N. L. Pratiwi (Ed.), *Airlangga University Press* (Edisi 1).
33. Rahim, M. A., Suartha, I. N., & Sudimartini, L. M. (2017). Efek Imunostimulator Ekstrak Daun Kasturi (Mangifera Casturi) Pada Mencit. *Indonesia Medicus Veterinus*, *6*(1), 10–19. https://doi.org/10.19087/imv.2017.6.1.10
34. Rahmawati, A., & Rasiyanto, E. (2019). Potensi Ekstrak Daun Miana (Coleus atropurpureus) Menghambat Pertumbuhan Malassezia furfur pada Penderita Pityriasis versicolor. *Medula*, *6*(3), 627–634. https://doi.org/10.46496/medula.v6i3.9644
35. Rezeki, T. (2021). Uji Efek Imunostimulan Ekstrak Etanol Daun Sungkai *(Peronema Canescens Jack)* Terhadap Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritoneum Pada Mencit. *Skripsi S1 Farmasi Universitas Perintis Indonesia Padang*.
36. Ridwan, Y., Satrija, F., & Handharyani, E. (2020). In Vitro Anticestode Activity of Secondary Metabolite of Coleus blumei. Benth Leaves on Hymenolepis microstoma. *Jurnal Medik Veteriner*, *3*(1), 31–37. https://doi.org/10.20473/jmv.vol3.iss1.2020.31-37
37. Rosnizar, R., Maulida, S., Eriani, K., & Suwarno. (2017). The potential of flamboyan leaf extract [Delonix regia (Boj. Ex Hook.) Raf.] against the increasing activity and capasity of macrofag. *Jurnal Bioleuser*, *1*(3), 104–115.
38. Rowe, C. R., Sheskey, P. J., & Marian, Q. E. (2009). Handbook of Pharmaceutical Excipients. In C. R. Rowe, P. J. Sheskey, & Q. E. Marian (Eds.), *Dosage Forms, Formulation Developments and Regulations: Recent and Future Trends in Pharmaceutics, Volume 1* (6 th, Vol. 1).

Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91817-6.00003-6

39. Sabrina, A. P., Tania, E., Nurhalifah, N., Veronita, S. C., Puji, S. I., & Nuryamah, S. (2022). Aktivitas Imunodulator Dari Jawer Kotok (*Coleus scutellariodes* (L) Benth). *Jurnal Buana Farma*, *2*(2), 40–55. https://doi.org/10.36805/jbf.v2i2.385
40. Sawiji, R. T., La, E. O. J., & Sukarmini, N. K. (2020). Pengaruh Variasi CMC-Na Terhadap Sifat Fisik dan Stabilitas Sediaan Gel Aromaterapi Kulit Buah Jeruk Limau (Citrus amblycarpa (Hassk.) Ochse). *Lombok Journal of Science*, *2*(2), 15–21.
41. Subowo. (2018). *Imunologi Klinik* (S. Seto (ed.); Edisi 3). CV. Sagung Seto.
42. Surahmaida, & Umarudin. (2019). Toxicity of Miana Leaf (Coleus blumei) Extract Against Houseflies (Musca domestica). *Journal Biosaintifika Unnes*, *11*(81), 249–255.
43. Syachriyani, S., Arif, M., Pratiwi Agustikawati, D., Firmansyah, F., & Muhammad Farid, A. (2023). Potensi Imunomodulator Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Semangka Merah *(Citrullus Lanatus)* Dan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah *(Hylocereus Polyrhizus)* Terhadap Peningkatan Makrofag Mencit. *Pharmacology And Pharmacy Scientific Journals*, *2*(2), 101–110. https://doi.org/10.51577/papsjournals.v2i2.468
44. Syamsul, M., SN, A., & Anasagi, T. (2019). Bahan Ajar Teknologi Bank Darah (TBD) : Immunologi. In H. Kusniawati (Ed.), *Kementerian Kesehatan* (Edisi Tahu, Vol. 4, Issue 1). Kementerian Kesehatan RI.
45. Syamsuri, F., Hatta, M., Natzir, R., Alam, G., Massi, M. N., Bahar, B., & Rahardjo, S. P. (2018). Expression of TLR-4 in Salmonella typhi-Induced Balb/c Mice Treated by Miana Leaves (Coleus scutellaroides (L) Benth. *Indian Journal of Public Health Research and Development*, *9*(12), 1449–1454. https://doi.org/10.5958/0976-5506.2018.02057.0
46. Ta'dung, R., A.Tumbol, R., D.Mudeng, J., J, Sinjal, H., & Lumenta, C. (2023). Pemanfaatan ekstrak daun miana (Coleus atropurpureus L. (Bent)) untuk meningkatkan respon imun benih ikan Nila (Oreochromis niloticus).

E-Journal Budidaya Perairan, *11*(2), 90–97.

47. Ulfah, M., Kurniawan, R. C., & Erny, M. (2020). Standardisasi Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Jamblang (Syzygium cumini (L.) Skeels). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, *17*(2), 35–43.
48. Umarudin, Adnyana, I. G. A., Rohayati, Slamet, N. ., Sembiring, F., Rakanita, Y., Sari, N. K. Y., Sumariangen, A. ., Kurniati, I., Yuliawati, Permatasari, A. A. A. ., Merdekawati, F., & Dermawan, A. (2023). *Bakteriologi 2* (H. Akbar (ed.)). CV.Media Sains Indonesia.
49. Umarudin, S., & Hyssopus, P. (2019). Identifikasi Dan Analisa Senyawa Kimia Ekstrak Daun Miana (*Coleus blumei*). *IPTEK Journal of Proceedings Series*, *0*(4), 24–27.
50. Wahyuni, W., Yusuf, M. I., Malik, F., Lubis, A. F., Indalifiany, A., & Sahidin, I. (2019). Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Spons Melophlus sarasinorum Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag Pada Mencit Jantan Balb/C. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, *5*(2), 147–157. https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13611
51. Widhihastuti, E., Larasati, D. ., & Fajar Agustina, N. (2024). Kajian Farmakologi Daun Iler (Coleus Scutellarioides (L.) Benth). *Bookchapter Alam Universitas Negeri Semarang*, *4*, 97–109.
52. Yanto, T. A., Hatta, M., Bukhari, A., & Natzir, R. (2020). Molecular and immunological mechanisms of miana leaf (coleus scutellariodes [L] benth) in infectious diseases. *Biomedical and Pharmacology Journal*, *13*(4), 1607–1618. https://doi.org/10.13005/BPJ/2036
53. Yanuarty, R., Tobondo, N. A., Tandi, J., & Budiawan, E. (2023). Penetapan Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Miana Secara Spektrofotometer Uv-Vis. *Farmakologika Jurnal Farmasi*, *XX*(1).
54. Yunita, E., & Khodijah, Z. (2020). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol saat Maserasi terhadap Kadar Kuersetin Ekstrak Daun Asam Jawa (Tamarindus

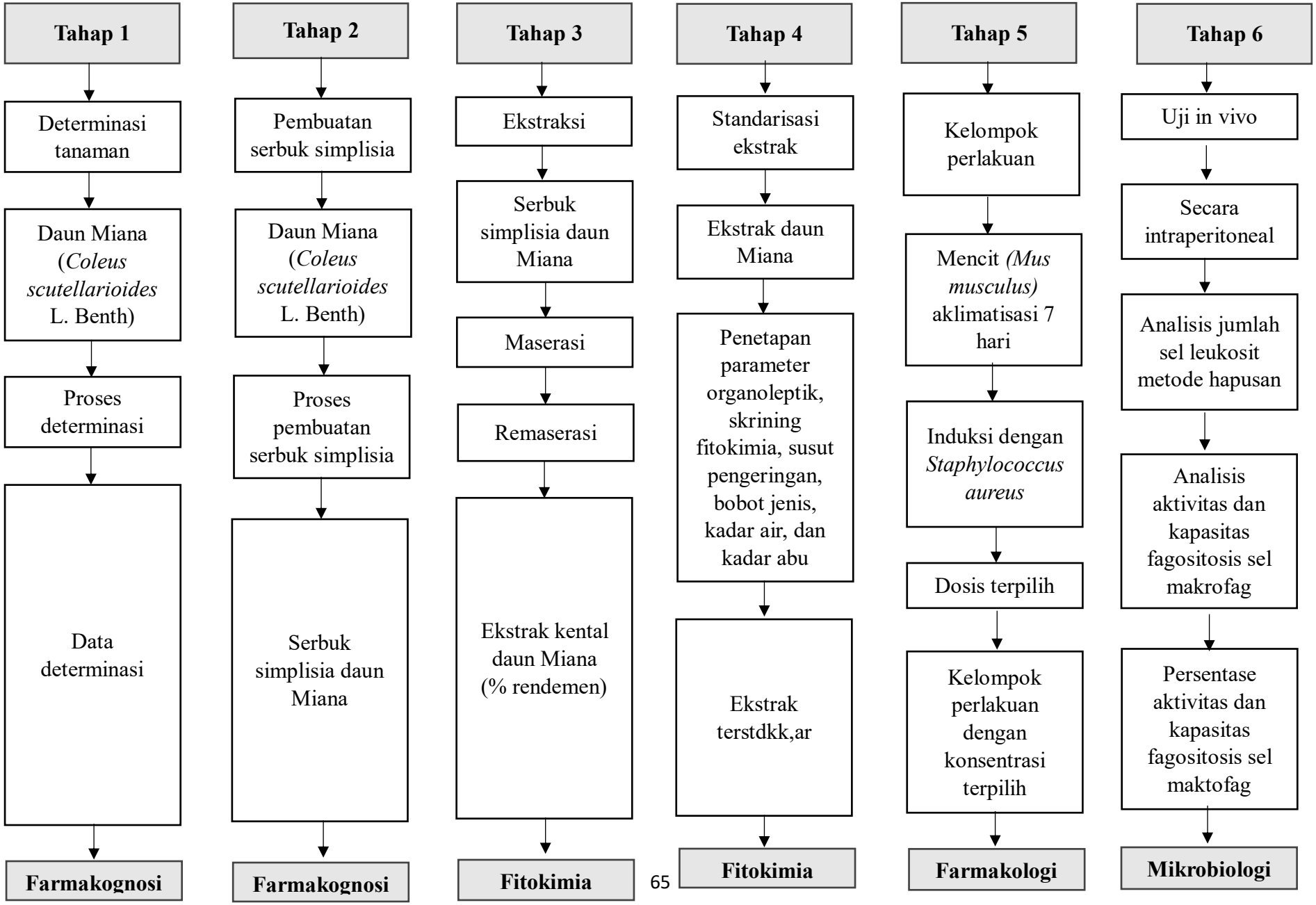
indica L.) secara Spektrofotometri UV-Vis. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, *17*(2), 273. https://doi.org/10.30595/pharmacy.v17i2.6841

LAMPIRAN

Lampiran 1. Rencana Jadwal Penelitian Uji Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag mencit dengan pemberian Ekstrak Daun Miana *(Coleus scutellarioides* L. Benth) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

No	Kegiatan	2024																								2025																			
		Maret				April				Mei				Juni				Juli				Agustus				Maret				April				Mei				Juni				Juli				Agustus			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1.	Telusur pustaka																																													
2.	Penyusunan proposal PI																																													
3.	Sidang proposal																																													
4.	Revisi proposal																																													
5.	Penelitian di laboratorium																																													
6.	Progres 1 (Hasil penelitian)																																													
7.	Pengolahan data																																													
8.	Progres 2																																													
9.	Progres 3																																													
10.	Draft jurnal nasional terakreditasi																																													
11.	Sidang skripsi																																													
12.	Revisi skripsi																																													
13.	Publikasi jurnal nasional terakreditasi																																													

Lampiran 2. Desain Penelitian Uji Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Mencit dengan Pemberian Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*



Lampiran 3. Rencana Anggaran Penelitian Uji Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Mencit dengan Pemberian Ekstrak Daun Miana (Coleus scutellarioides L. Benth) terhadap bakteri Staphylococcus aureus

No.	Nama Barang	Volume	Satuan	Harga Satuan (Rp)	Jumlah (Rp)
	Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia				
1	**Determinasi tanaman**	1	Paket	250.000	250.000
				Total (Rp)	**250.000**
2	**Ekstraksi**				
	Kertas saring	1	Pack	15.000	15.000
	Etanol 96%	5	L	88.000	88.000
	Bejana maserasi	3	Buah	60.000	180.000
	Batang pengaduk	3	Buah	7,500	22.500
				Total (Rp)	**305.500**
3	**Standarisasi ekstrak**				
	Aquadest	1	L	6.000	6.000
	Asam klorida (HCl) pekat	50	mL	25.000	25.000
	Anhidrida asetat	50	mL	200.000	200.000
	Etanol 96%	1	L	18.000	18.000
	$FeCl_3$ (larutan besi (III) klorida)	100	mL	30.000	30.000
	Larutan HCl 1N	50	mL	25.000	25.000
	Kloroform	50	mL	60.000	60.000
	Amoniak	250	mL	35.000	35.000
	Magnesium serbuk	2	g	35.000	35.000
	Reagen Dragendorff	100	mL	115.000	115.000
	Reagen Wagner	50	mL	50.000	50.000
	Reagen Mayer	50	mL	119.000	119.000
	Asam sulfat (H_2SO_4)	1	Kg	25.000	25.000
	Amil alkohol	10	mL	50.000	50.000
				Total (Rp)	**793.000**
	Laboratorium Farmakologi				
1	**Uji in Vivo**				
	Na CMC	100	g	14.000	14.000
	Imboost Kid’s	60	mL	50.000	50.000
	Pakan hewan coba	20	Kg	169.000	169.000
	Serbuk kayu	10	Pack	5.000	50.000
	Eter	100	mL	115.000	115.000
	Na_2EDTA	2	g	13.000	26.000
	NaCl	500	mL	17.500	17.500
	$BaCl_2$	100	cc	13.000	13.000
	Metanol	1	L	12.000	12.000
	Larutan Giemsa	100	mL	130.000	130.000
	Kaca objek	1	box	35.000	35.000
	Sonde mencit	1	Buah	23.000	23.000
	Spuit 5 ml	5	Buah	2.000	10.000
	Mencit	25	Ekor	15.000	375.000

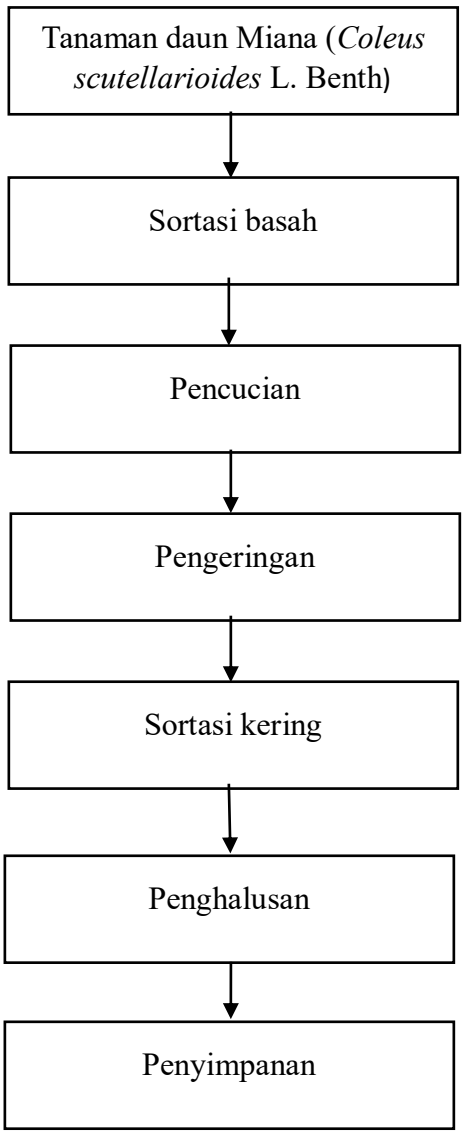
	Bakteri *Staphylococcus aureus*	50	mL	375.000	375.000
				Total (Rp)	**1.414.000**
	Laboratorium Imunologi				
1	**Uji In Vivo**				
	Sewa Mikroskop cahaya	1	Paket	500.000	500.000
				Total (Rp)	**500.000**
	Lain-lain				
1	Cetak jilid	88	Lembar	500	44.000
	Jilid naskah	1	Paket	40.000	40.000
	Pulpen	1	Pak	10.000	10.000
	Spidol hitam	1	Buah	13.000	13.000
	Buku catatan	1	Buah	10.000	10.000
	Transportasi pulang-pergi	40	PP	15.000	600.000
	Publikasi Jurnal Nasional Terakreditasi	1	Paket	500.000	500.000
				Total (Rp)	**1.217.000**
				Total keseluruhan (Rp)	**4.479.000**

Lampiran 4. Perhitungan Dosis

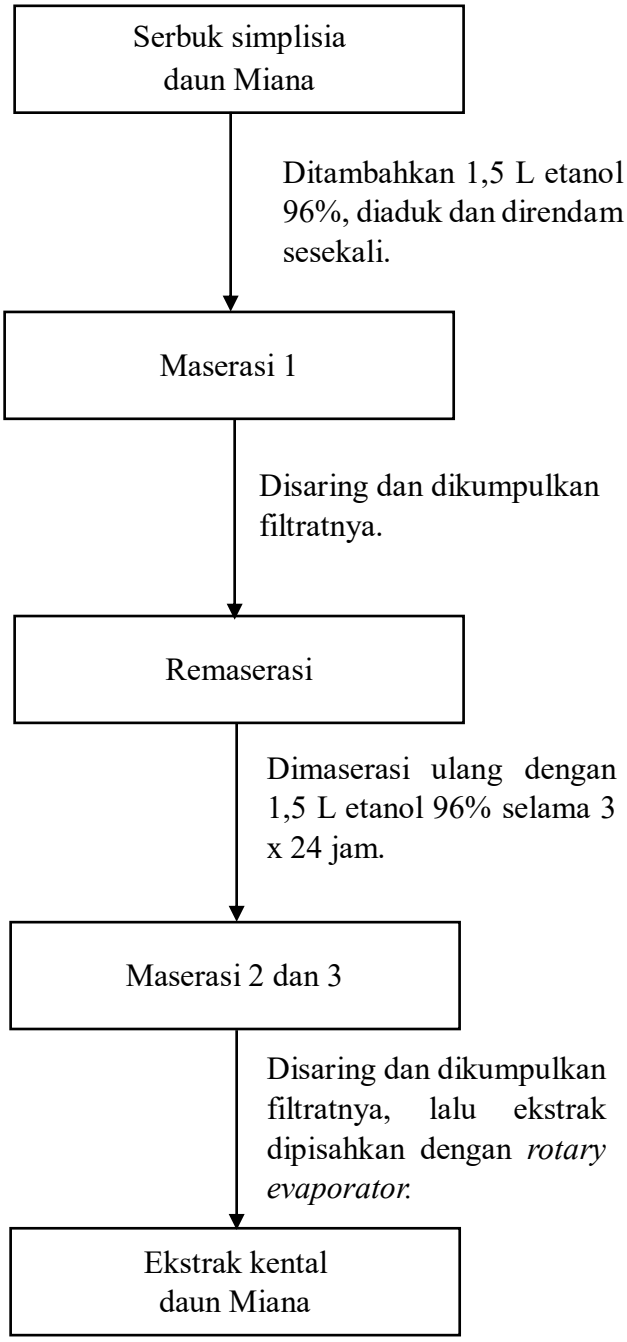
1) Perhitungan Dosis Imboost

Diagram Operasional

a. Pembuatan serbuk simplisia daun Miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth)



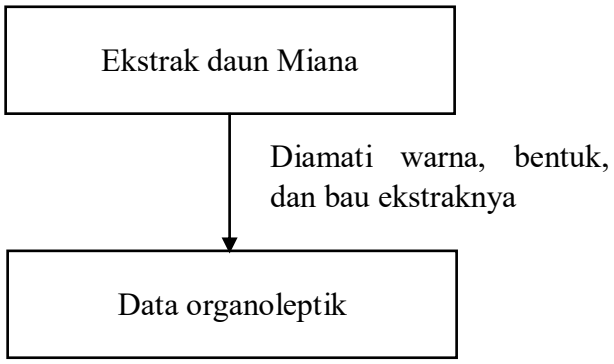
b. Ekstraksi daun Miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth)



c. Skema standarisasi ekstrak daun Miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth)

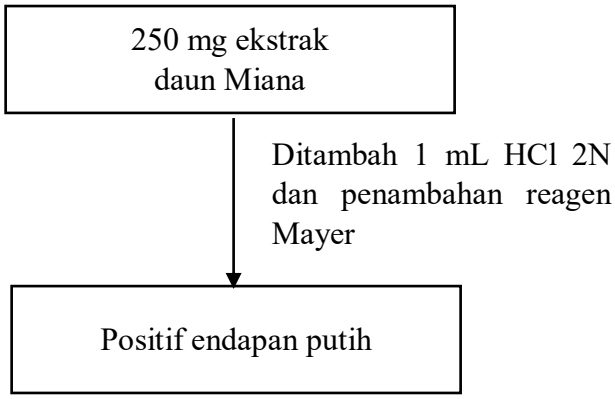
1. Penetapan parameter spesifik

a) Organoleptik

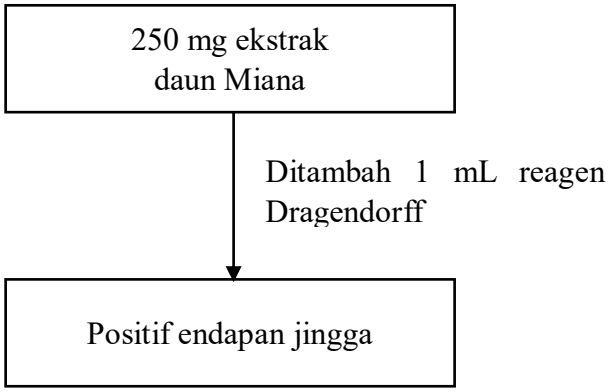


b) Skrining Fitokimia

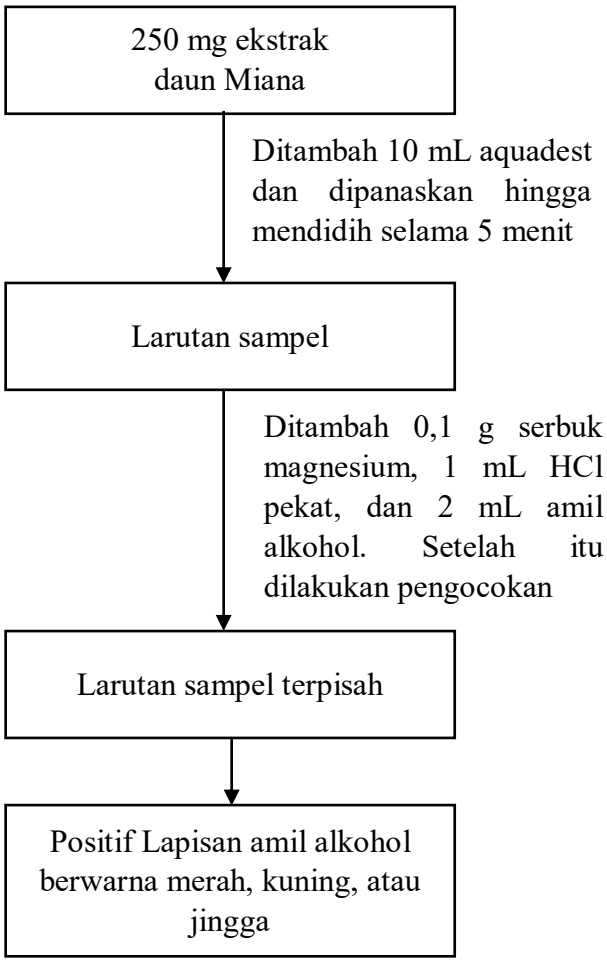
- Senyawa Alkaloid
  - Reagen Mayer



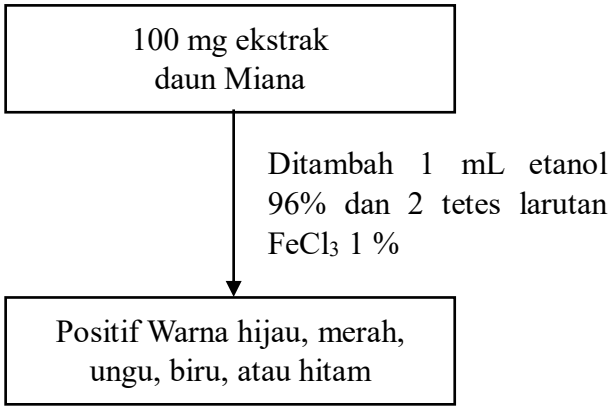
- Reagen Dragendorff



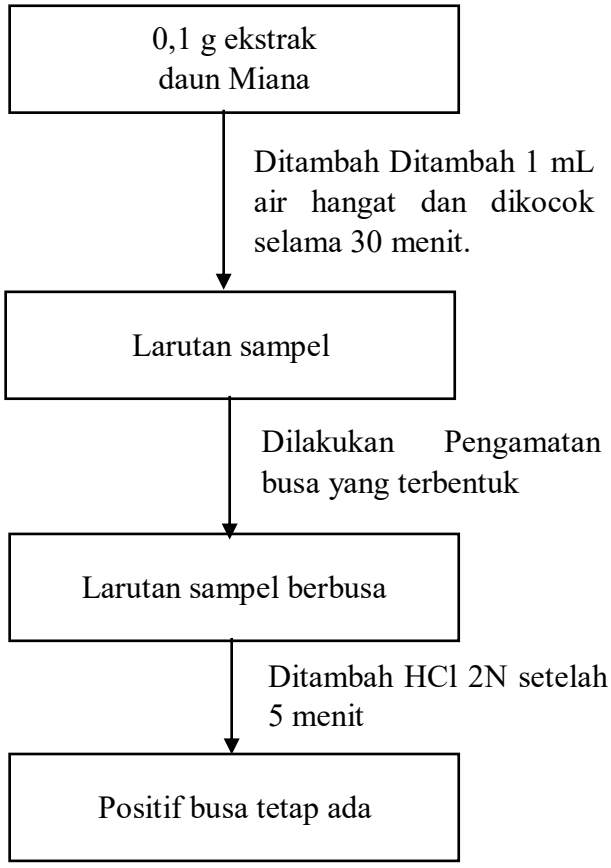
- Senyawa Flavonoid



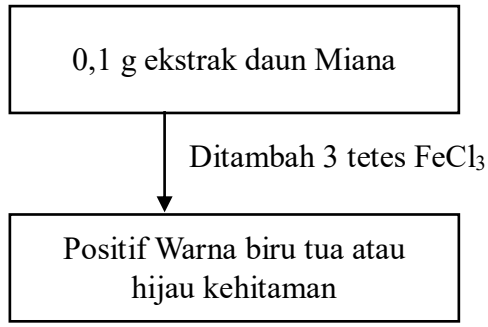
- Senyawa fenolik



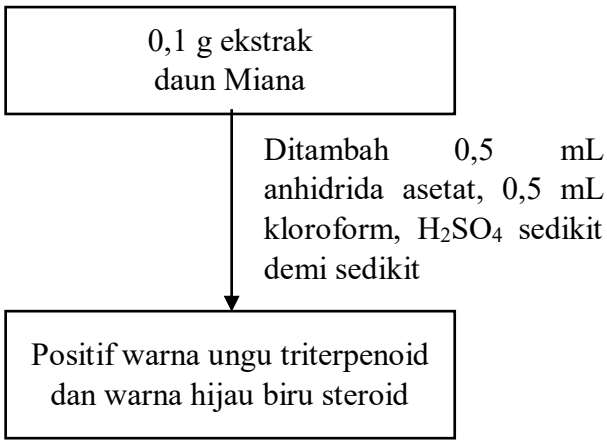
- Senyawa saponin



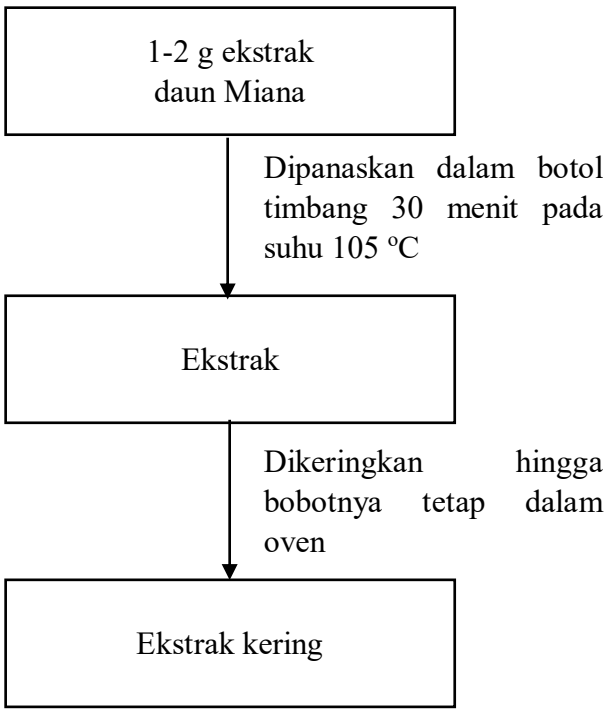
- Senyawa tanin



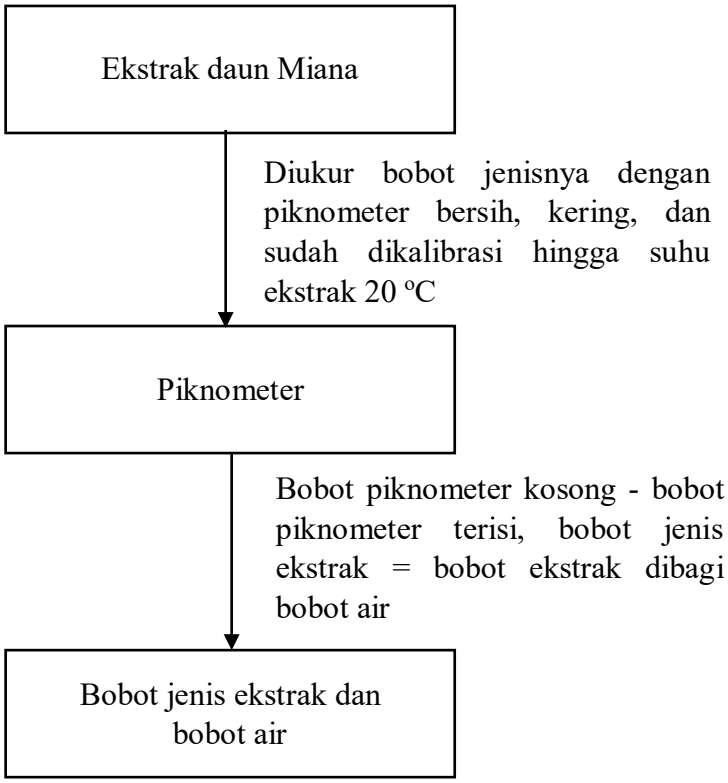
- Steroid & Triterpenoid



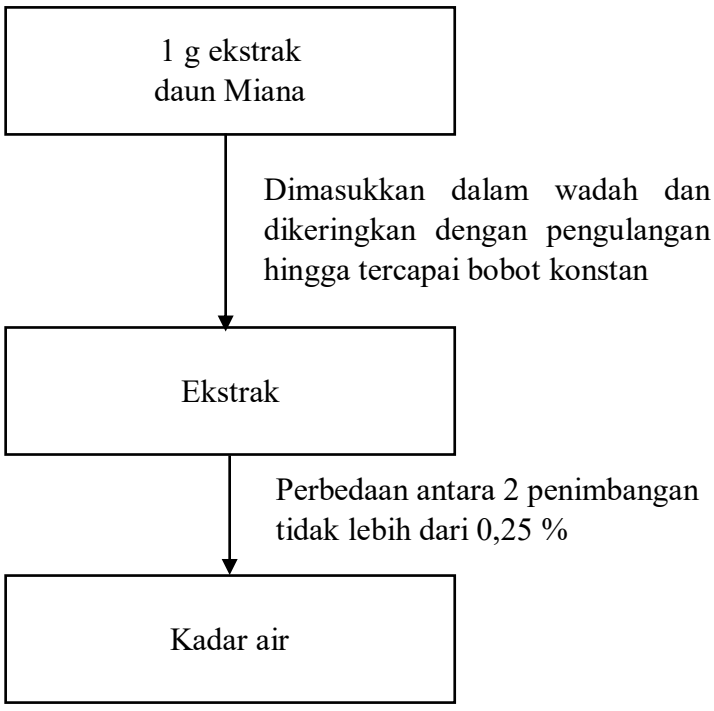
a. Parameter Spesifik
   1. Susut pengeriingan



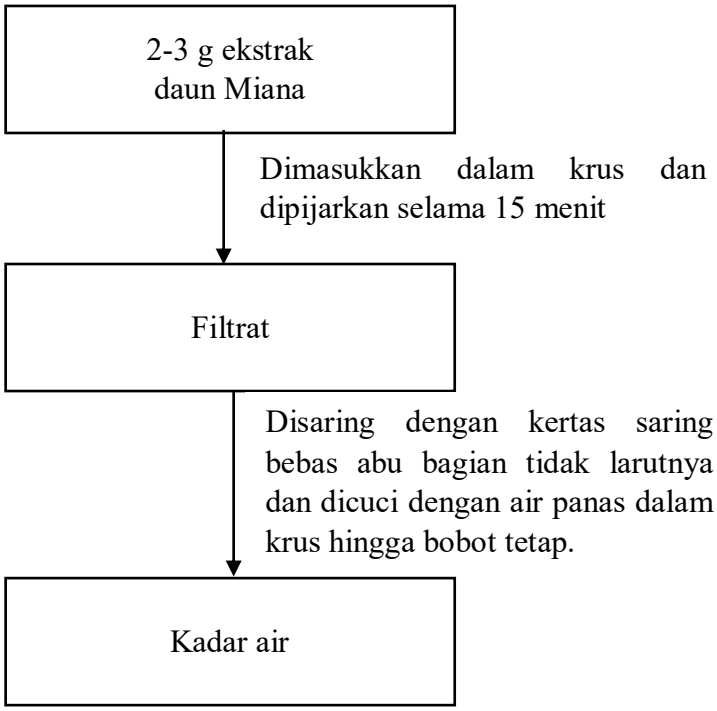
2. Bobot jenis



3. Kadar air



4. Kadar abu


2-3 g ekstrak
daun Miana
Dimasukkan dalam krus dan dipijarkan selama 15 menit
Filtrat
Disaring dengan kertas saring bebas abu bagian tidak larutnya dan dicuci dengan air panas dalam krus hingga bobot tetap.
Kadar air

Lampiran 5. Skema Besar “In Vivo Fagositosis Sel Makrofag Mencit ”

