

KARYA TULIS ILMIAH

**PENGARUH PEMBERIAN DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens*)
TERHADAP JUMLAH SEL EOSINOFIL PADA KULIT
MENCIT (*Mus musculus*) ALERGI DARI
INDUKSI OVALBUMIN**

Disusun untuk memenuhi persyaratan mencapai gelar Amd.Kes
Teknologi Laboratorium Medis



Disusun Oleh:

RISKI ADITYA PRATAMA
NIM P07234020041

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN KALIMANTAN TIMUR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
2023**

KARYA TULIS ILMIAH

**PENGARUH PEMBERIAN DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens*)
TERHADAP JUMLAH SEL EOSINOFIL PADA KULIT
MENCIT (*Mus musculus*) ALERGI DARI
INDUKSI OVALBUMIN**



Disusun Oleh:

RISKI ADITYA PRATAMA
NIM P07234020041

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN KALIMANTAN TIMUR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
2023**

KARYA TULIS ILMIAH

**PENGARUH PEMBERIAN DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens*)
TERHADAP JUMLAH SEL EOSINOFIL PADA KULIT
MENCIT (*Mus musculus*) ALERGI DARI
INDUKSI OVALBUMIN**

Disusun untuk memenuhi persyaratan mencapai gelar Amd.Kes pada
Teknologi Laboratorium Medis



Disusun Oleh:

RISKI ADITYA PRATAMA
NIM P07234020041

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN KALIMANTAN TIMUR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
2023**

HALAMAN PENGESAHAN

KARYA TULIS ILMIAH

**Pengaruh Pemberian Daun Sungkai (*Peronema canescens*)
Terhadap Jumlah Sel Eosinofil Pada Kulit
Mencit (*Mus musculus*) Alergi Dari
Induksi Ovalbumin**

Disusun Oleh:

RISKI ADITYA PRATAMA

NIM: P07234020041

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal : 09 Juni 2023

SUSUNAN DEWAN PENGUJI

1. H. Rasmun, S.Kep., M.Kes
NIP: 196006261982031005

(.....)

2. Dr. M. Drs. H. Lamri, M. Kes
NIP: 195811171982031002

(.....)

3. I Gede Andika Sukarya, S. ST., M. Imun
NIP: 198706232010121002

(.....)

Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis,

Politeknik Kesehatan Kemenkes Kalimantan Timur



Supri Hartini, M. Kes
NIP. 197009061994032009

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Riski Aditya Pratama
NIM : P07234020041
Jurusan/Program studi : D-III Teknologi Laboratorium Medis

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang saya tulis ini benar-benar tulisan saya, dan bukan merupakan plagiasi baik sebagian atau seluruhnya.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini hasil plagiasi, baik sebagian atau seluruhnya, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Samarinda, 26 Juni 2023

Yang membuat pernyataan



Riski Aditya Pratama
NIM. P07234020041

RIWAYAT HIDUP



I. Identitas

Nama : Riski Aditya Pratama
Tempat, Tanggal Lahir : Tanjung Palas, 24 Juli 2002
Pekerjaan : Mahasiswa
Agama : Islam
Suku/Bangsa : Bulungan/Indonesia
Alamat : Jl. Kasimudin, Rt. 002, Kel. Tanjung Palas Hulu,
Kab. Bulungan, Kalimantan Utara

II. Pendidikan

1. PAUD Gerbang Tanjung Palas Hulu 2007-2008
2. SDN 007 Tanjung Palas Hulu 2009-2014
3. SMPN 1 Tanjung Palas 2015-2017
4. SMAN 1 Tanjung Palas 2018-2020
5. Memasuki Jenjang Pendidikan Diploma III Teknologi Laboratorium Medis di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Kalimantan Timur Tahun 2020.

ABSTRAK

Pengaruh Pemberian Daun Sungkai (*Peronema canescens*) Terhadap Jumlah Sel Eosinofil Pada Kulit Mencit (*Mus musculus*) Alergi Dari Induksi Ovalbumin

Riski Aditya Pratama¹, H. Lamri², I Gede Andika Sukarya³

Alergi merupakan reaksi berlebihan dari sistem kekebalan tubuh terhadap suatu zat yang berhubungan dengan aktivitas imunoglobulin E (IgE) karena adanya alergen tertentu. Salah satu sel yang teraktivasi adalah eosinofil saat terjadinya inflamasi. Daun sungkai (*Peronema canescens*) memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, alkaloid dan fenol yang memiliki aktivitas antiinflamasi, yang membantu dalam proses penyembuhan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian infusa daun sungkai terhadap peningkatan atau penurunan jumlah sel eosinofil pada kulit mencit alergi yang diinduksi ovalbumin. Penelitian ini menggunakan eksperimen murni dengan metode *post-test only with control group design*, menggunakan mencit jantan sebanyak 27 ekor yang dibagi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol, alergi, dan alergi yang diberi infusa daun sungkai. Pada penelitian ini parameter yang di amati adalah penurunan atau peningkatan dari jumlah sel eosinofil pada kulit mencit alergi yang diberi infusa daun sungkai. Hasil penelitian ini menunjukkan dari 3 kelompok perlakuan, terjadi peningkatan jumlah sel eosinofil dikulit mencit pada kelompok mencit alergi dan kelompok mencit alergi yang diberi infusa di Uji statistik menggunakan uji *One Way Anova* dan terdapat pengaruh berupa peningkatan jumlah eosinofil dengan nilai p value 0.000. Maka dapat disimpulkan terdapat pengaruh pemberian daun sungkai (*Peronema canescens*) terhadap jumlah sel eosinofil pada kulit mencit alergi.

Kata kunci : Alergi, Daun Sungkai, Eosinofil

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia yang dilimpahkan-Nya sehingga penulis bisa menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah (KTI) dengan judul **“Pengaruh Pemberian Daun Sungkai (*Peronema canescens*) Terhadap Jumlah Sel Eosinofil Pada Kulit Mencit (*Mus musculus*) Alergi Dari Induksi Ovalbumin”**.

Karya tulis ini dapat terwujud atas seluruh upaya penulis, bimbingan, pengarahan, bantuan dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan penghargaan dan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. M. H. Supriadi, SKp., M.,Kep, selaku direktur Politeknik Kesehatan Kementrian Kesehatan Kalimantan Timur.
2. Ibu Supri Hartini, M. Kes, Selaku Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik kesehatan Kementrian Kesehatan Kalimantan Timur.
3. Dosen pembimbing I, Bapak Dr. M. Drs. H. Lamri, M. Kes selaku Pembimbing I dengan sabar memberikan arahan, dukungan, dan motivasi sehingga penulis bisa menyelesaikan Proposal Penelitian ini.
4. Dosen pembimbing II, Bapak I Gede Andika Sukarya, S.ST., M. Imun selaku Pembimbing II dengan sabar memberikan arahan, dukungan, dan motivasi sehingga penulis bisa menyelesaikan Proposal Penelitian ini.
5. Dosen penguji, Bapak H. Rasmun, S. Kep., M. Kes selaku Penguji Utama.
6. Seluruh Dosen dan Staf Jurusan Teknologi Laboratorium Medis yang telah memberikan ilmu dan dukungan selama ini.
7. Bapak Abdul Hamid.Y dan Ibu Erfinah selaku kedua orang tua penulis, serta seluruh keluarga yang selalu memberikan doa dan dukungannya dalam segala hal.
8. Sahabat-sahabat penulis atas seluruh dukungan, hiburan, dan bantuan dalam bentuk apapun.
9. Rekan-rekan Mahasiswa Teknologi Laboratorium Medis Angkatan 2020 dan seluruh pihak yang ikut serta membantu dalam penyusunan proposal penelitian ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini masih banyak kekurangan dan perlu penyempurnaan. Dengan senang hati dan sikap terbuka, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi kelancaran penelitian ini. Atas kritik, saran dan masukannya, penulis ucapkan terima kasih.

Samarinda, Juni 2023



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
ABSTRAK	v
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan	3
D. Ruang Lingkup Penelitian	4
E. Manfaat	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Alergi	5
B. Ovalbumin	7
C. Eosinofil	8
D. Daun Sungkai	14
E. Mencit (<i>Mus musculus</i>)	16
F. Kerangka Teori	17
G. Kerangka Konsep	18
H. Hipotesis	18
BAB III. METODELOGI PENELITIAN	
A. Jenis dan Rancangan Penelitian	19

B. Lokasi dan Waktu Penelitian	19
C. Desain Penelitian	20
D. Populasi, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	21
E. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	22
F. Alat, Bahan, dan Prosedur Kerja	23
G. Pemeriksaan Mikroskopis Kulit Mencit	28
H. Pengumpulan Data	28
I. Analisis Data	29
J. Kerangka Operasional	30
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian	31
B. Pembahasan	33
C. Keterbatasan Penelitian	36
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	37
A. Kesimpulan	37
B. Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Sel Eosinofil.....	8
Gambar 2. 2 Proses eosinophilia.....	10
Gambar 2. 3 Mekanisme eosinofilia selama respon fase lambat.....	11
Gambar 2. 4 Eosinofil dan isinya.....	12
Gambar 2. 5 Daun Sungkai (<i>Peronema canescens</i>).....	14
Gambar 2. 6 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	16
Gambar 2. 7 Kerangka Teori.....	17
Gambar 2. 8 Kerangka Konsep.....	18
Gambar 2. 9 Desain Penelitian.....	20
Gambar 3. 1 Kerangka Operasional.....	29
Gambar 4.1 Grafik Hasil Jumlah Sel Eosinofil.....	32



DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Definisi Operasional.....	23
Tabel 4.1 Jumlah Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Sel Eosinofil Mencit Kontrol, Mencit Alergi dan Mencit Alergi dengan Olesan Daun Sungkai Pada Hari ke-14.....	32
Tabel 4.2 Uji Pengaruh Pemberian Daun Sungkai (<i>Peronema canescens</i>) Terhadap Jumlah Sel Eosinofil Pada Kulit Mencit (<i>Mus musculus</i>) Alergi Dari Induksi Ovalbumin.....	33

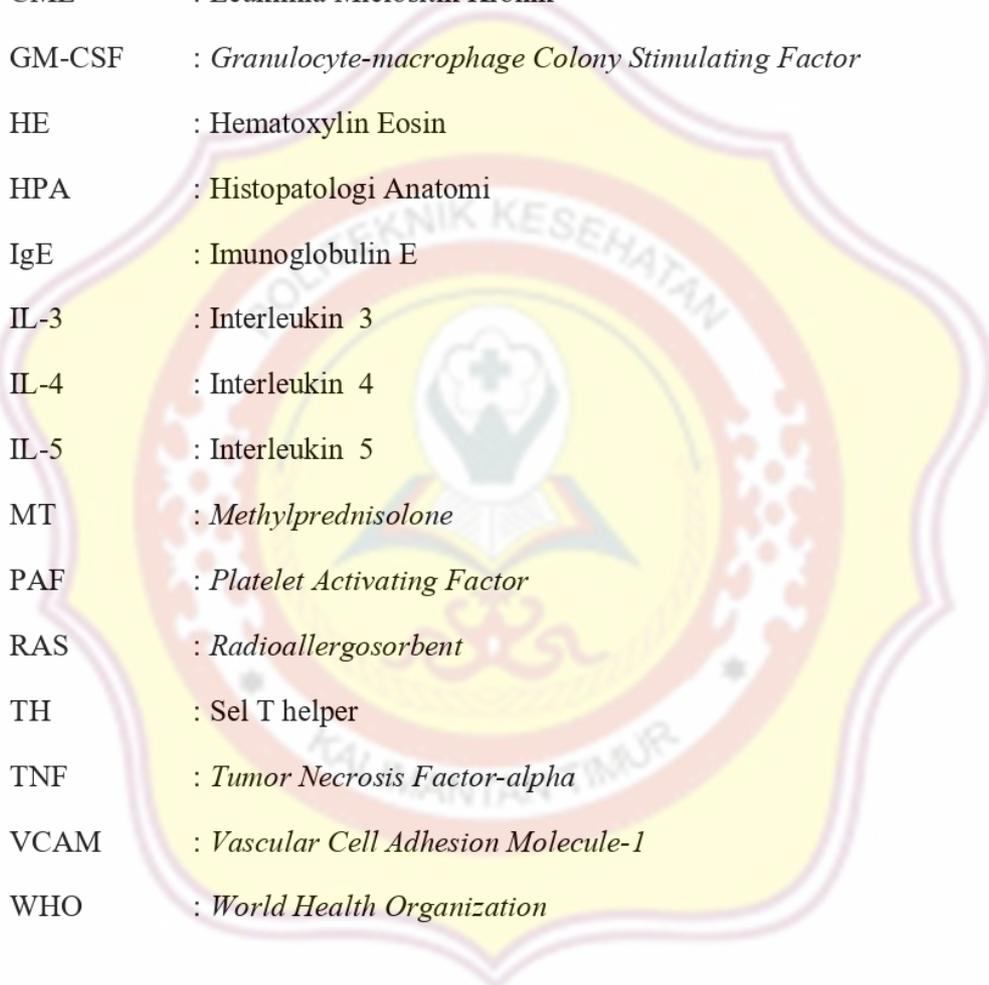


DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Izin Penelitian	42
Lampiran 2 Tabel Hasil Data Primer	44
Lampiran 3 Uji Statistik	45
Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian	47



DAFTAR SINGKATAN



APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
CML	: Leukimia Mielositik Kronik
GM-CSF	: <i>Granulocyte-macrophage Colony Stimulating Factor</i>
HE	: Hematoxylin Eosin
HPA	: Histopatologi Anatomi
IgE	: Immunoglobulin E
IL-3	: Interleukin 3
IL-4	: Interleukin 4
IL-5	: Interleukin 5
MT	: <i>Methylprednisolone</i>
PAF	: <i>Platelet Activating Factor</i>
RAS	: <i>Radioallergosorbent</i>
TH	: Sel T helper
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i>
VCAM	: <i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hipersensitivitas merupakan peningkatan sensitivitas terhadap antigen yang telah terpapar sebelumnya (Baratawidjaja KG, 2009). Hipersensitivitas tipe 1 atau dikenal juga dengan istilah alergi adalah reaksi berlebihan dari sistem kekebalan tubuh terhadap suatu zat yang berhubungan dengan aktivitas imunoglobulin E (IgE). Respon imun ini menyebabkan kerusakan di jaringan yang manifestasinya sesuai dengan target organ yang dikenainya (Hikmah and Dewanti, 2010).

Alergi merupakan salah satu penyakit yang menjadi masalah utama kesehatan di dunia. World Health Organization (WHO) melaporkan bahwa 20% penduduk dunia menderita penyakit alergi yang diperantarai IgE, seperti asma, rinitis alergi, konjungtivitis alergi, eksim, dan anafilaksis (Pawankar *et al.*, 2011). Prevalensi rinitis alergi di Indonesia diperkirakan berkisar antara 10 - 20% dan secara konstan meningkat. Usia rata-rata onset rinitis alergi adalah 8 - 11 tahun dan 80% rinitis alergi berkembang dengan usia 20 tahun (Kasim, H and Buchori, 2020). Berdasarkan Badan Pusat Statistik Nasional Data Persentase Penyakit Alergi Pada Anak di Kalimantan Timur pada tahun 2017(1,18%), 2018(1,18%), 2019 (0,96%) (Ningrum, Irawan and Lubis, 2021). Biasanya rinitis alergi timbul pada usia muda. Prevalensi alergi di seluruh dunia kesehatan meningkat pesat baik di negara maju maupun negara berkembang. Peningkatan ini telah terjadi selama dua dekade terakhir dan menjadi masalah terutama pada anak-anak (Pawankar *et al.*, 2011).

Diketahui bahwa suatu alergi dapat terjadi apabila seseorang terpapar dengan alergen. Ada beberapa jenis alergen yaitu serbuk sari, tungau debu rumah, bulu binatang, makanan, dan bahan kimia seperti antibiotik. Salah satu jenis alergen yang terbukti dapat menstimulasi alergi adalah ovalbumin. Ovalbumin merupakan bagian dari protein yang ada di dalam putih telur yang

mempunyai tingkat alergenitasitas 100%(Anita Chaudhari, Brinzel Rodrigues, 2016).

Ovalbumin merupakan protein utama putih telur yang dapat berperan sebagai alergen dan sering digunakan untuk menginduksi reaksi alergi pada hewan percobaan. Ovalbumin adalah fosfolipoprotein monomer dengan berat molekul 45.000 dalton. Dalam berbagai penelitian pada hewan coba, ovalbumin telah terbukti digunakan sebagai alergen yang menyebabkan reaksi hipersensitivitas tipe I (Nurcholis, Suprobowati, 2018).

Pada saat terjadinya alergi salah satu yang memiliki peran yaitu sel leukosit dimana sel ini membantu dalam proses melawan mikroorganisme atau senyawa penyebab infeksi. Salah satu sel leukosit yang berperan yaitu sel eosinofil dimana memiliki peran penting dalam respon inflamasi alergi. Jumlah eosinofil meningkat didalam darah perifer selama inflamasi alergi fase lambat (late-phase reaction) dan menetap lebih lama dibanding sel inflamasi lainnya. Eosinofil digunakan sebagai penanda reaksi inflamasi pada penyakit alergi, salah satunya adalah reaksi alergi pada jaringan kulit (Carin, A.A. & Sund and Bhrigu K Lahkar, 2011).

Kondisi alam Indonesia cukup subur karena letak geografisnya yang melintasi garis khatulistiwa dan iklim tropis yang sangat menguntungkan bagi tumbuh dan berkembangnya berbagai tanaman, Saat ini, banyak tanaman yang kurang dikenal memiliki manfaat dan nilai ekonomi yang besar, khususnya tanaman-tanaman yang memiliki khasiat, baik sebagai obat tradisional maupun sebagai insektisida alami. Seiring dengan semakin berkembangnya penggunaan tanaman obat dalam dunia kesehatan dengan semboyan *back to nature*, keingintahuan masyarakat terhadap khasiat dan manfaat tanaman obat semakin berkembang.(Setyani, 2012).

Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat adalah daun Sungkai (*Peronema canescens*) yang merupakan tumbuhan asli Indonesia yang banyak ditemui di wilayah Sumatera bagian selatan dan Kalimantan (Imelda *et al.*,

2007). Secara empiris daun Sungkai digunakan sebagai obat memar, obat pilek, obat demam, obat cacingan, dan pencuci mulut untuk mencegah penyakit gigi ,selain itu juga digunakan sebagai obat luka luar, obat luka dalam, anti-plasmodium, dan obat diare berdarah (Latief *et al.*, 2021).

Menurut (Rahmani, Sutiya and Abidin, 2022) dilaporkan beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun Sungkai (*Peronema canescens*) yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, steroid dan fenolik (Ramadenti, Sundaryono and Handayani, 2017). Senyawa flavonoid, saponin, alkaloid dan fenol memiliki aktivitas antiinflamasi. Dimana kandungan metabolit sekunder, tannin dan flavonoid tersebut memiliki aktivitas sebagai antioksidan sehingga dapat mencegah kerusakan akibat stress oksidatif (Latief *et al.*, 2021). Terjadinya inflamasi ditandai dengan migrasi sel leukosit dari sirkulasi darah pada bagian peradangan. Oleh karena itu untuk mengetahui aktivitas efek anti-inflamasi dengan mengamati jumlah sel leukosit yang berkurang pada bagian peradangan (Nasution *et al.*, 2016).

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka peneliti ingin mengetahui “Pengaruh Pemberian Daun Sungkai (*Peronema canescens*) Terhadap Jumlah Sel Eosinofil Pada Kulit Mencit (*Mus musculus*) Alergi Dari Induksi Ovalbumin”.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah “ **Bagaimana Pengaruh Pemberian Daun Sungkai (*Peronema canescens*) Terhadap Jumlah Sel Eosinofil Pada Kulit Mencit (*Mus musculus*) Alergi Dari Induksi Ovalbumin?**”

C. Tujuan

1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Pengaruh Pemberian Daun Sungkai (*Peronema canescens*) Terhadap Jumlah Sel Eosinofil Pada Kulit Mencit (*Mus musculus*) Alergi Dari Induksi Ovalbumin.

2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui apakah terjadi peningkatan atau penurunan jumlah sel eosinofil pada kulit mencit (*Mus musculus*) alergi dari induksi ovalbumin setelah diberi olesan daun sungkai.
- b. Untuk mengetahui pengaruh pemberian daun sungkai (*Peronema canescens*) terhadap jumlah sel eosinofil pada kulit mencit (*Mus musculus*) alergi dari induksi ovalbumin.

D. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup pada penelitian ini termasuk bidang Hematologi, Sitohistoteknologi, dan Imunoserologi, yaitu dalam pemeriksaan eosinofil pada permukaan kulit mencit alergi.

E. Manfaat

1. Manfaat Teoritis

Menambah ilmu pengetahuan bagi peneliti mengenai alergi pada hewan coba (mencit) serta pengaruh pemberian daun sungkai (*Peronema canescens*) terhadap jumlah eosinofil pada kulit mencit (*Mus musculus*) alergi dari induksi ovalbumin.

2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk pengembangan keilmuan khususnya di bidang kesehatan untuk pembuatan obat alternatif anti alergi sebagai bahan referensi atau rujukan, dan tambahan pustaka pada perpustakaan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kalimantan Timur.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Alergi

1. Pengertian Alergi

Alergi merupakan reaksi sistem imun yang berlebihan terhadap suatu antigen tertentu yang kemudian disebut alergen, dan diperantarai oleh antibodi immunoglobulin E (IgE). Alergi berhubungan dengan atopi, yaitu suatu kecenderungan genetik untuk memproduksi antibodi IgE yang tinggi sebagai respon terhadap paparan alergen, dan akan bermanifestasi klinis menjadi penyakit alergi (Ningrum, Suprihati and Santosa, 2016). Daerah yang umumnya terkena efek dari alergi adalah: kulit sebesar (80– 90%), paru-paru dan saluran napas sebesar (70%), saluran cerna sebesar (30–45%), jantung dan pembuluh darah sebesar (10–45%), dan sistem saraf pusat sebesar (10–15%), faktor-faktor yang mempengaruhi alergi antara lain yaitu faktor pajanan alergi, genetik, dan imaturitas usus (Ningrum, Suprihati and Santosa, 2016).

2. Tipe Reaksi Alergi (Hipersensitivitas)

2.1 Hipersensitivitas Tipe I

Hipersensitivitas tipe I adalah kegagalan kekebalan tubuh di mana tubuh seseorang menjadi hipersensitif dalam bereaksi secara imunologi terhadap bahan-bahan yang umumnya imunogenik (antigenik) atau dikatakan orang yang bersangkutan bersifat atopik. Dengan kata lain, tubuh manusia bereaksi berlebihan terhadap lingkungan atau bahan-bahan yang oleh tubuh dianggap asing dan berbahaya, padahal sebenarnya tidak untuk orang-orang yang tidak bersifat atopik. Bahan-bahan yang menyebabkan hipersensitivitas tersebut disebut alergen (Hikmah and Dewanti, 2010).

2.2 Hipersensitivitas Tipe II

Reaksi alergi tipe II merupakan reaksi yang menyebabkan kerusakan pada sel tubuh oleh karena antibodi melawan/menyerang secara langsung antigen yang berada pada permukaan sel. Antibodi yang berperan biasanya Ig G. Tipe ini melibatkan K cell atau makrofag. Alergen akan diikat antibodi yang berada

di permukaan sel makrofag/K cell membentuk antigen antibodi kompleks. Kompleks ini menyebabkan aktifnya komplemen (C2 –C9) yang berakibat kerusakan (Hikmah and Dewanti, 2010).

2.3 Hipersensitivitas Tipe III

Merupakan reaksi alergi yang dapat terjadi karena deposit yang berasal dari kompleks antigen antibodi yang berada di jaringan. Adanya antigen antibody kompleks di jaringan, menyebabkan aktifnya komplemen. Kompleks ini mengaktifkan basofil sel mast aktif dan merelease histamine, leukotrienes dan menyebabkan inflamasi (Hikmah and Dewanti, 2010).

2.4 Hipersensitivitas Tipe IV

Ekstrinsik dan intrinsic/internal (“self”). Reaksi ini melibatkan sel-sel imunokompeten, seperti makrofag dan sel T. Makrofag (APC) mengikat alergen pada permukaan sel dan akan mentransfer alergen pada sel T, sehingga sel T merelease interleukin (mediator kimia) yang akan menyebabkan berbagai gejala (Hikmah and Dewanti, 2010).

3. Penyebab alergi

Penyebab alergi bermacam-macam yang kemudian disebut sebagai allergen. Pada kasus alergi saluran pernafasan, alergen bisa berupa tungau debu, kutu kucing, atau anjing, jamur, dan lain-lain yang terhirup melalui udara pernafasan. Pada alergi makanan, berbagai macam makanan yang mengandung protein tinggi seringkali menjadi penyebab alergi, seperti udang, telur, atau susu. Obat atau senyawa asing bagi tubuh juga bisa menjadi alergen bagi orang yang hipersensitif. Jenis makanan yang paling banyak menyebabkan reaksi alergi adalah kacang, susu, ikan laut, telur, pohon kacang-kacangan, sirip ikan, gandum, dan kedelai (Hikmah and Dewanti, 2010).

4. Gejala Alergi

Reaksi alergi bisa bersifat ringan atau berat. Kebanyakan reaksi terdiri dari mata berair, mata terasa gatal dan kadang bersin. Pada reaksi yang esktrim bisa terjadi gangguan pernafasan, kelainan fungsi jantung dan tekanan darah yang sangat rendah, yang menyebabkan syok. Reaksi jenis ini disebut

anafilaksis, yang bisa terjadi pada orang-orang yang sangat sensitif, misalnya segera setelah makan makanan atau obat-obatan tertentu atau setelah disengat lebah, dengan segera menimbulkan gejala (Hikmah and Dewanti, 2010).

B. Ovalbumin

Ovalbumin (OVA) merupakan protein utama yang berasal dari putih telur berupa glikoprotein dengan besar molekul 45.000 dalton. Putih telur mengandung banyak protein fungsional yang penting, protein terbanyak adalah Ovalbumin (54%), ovotransferrin (12%), ovomucoid (11%), ovomucin (3.5%), dan lisosim (3.5%) adalah protein yang memiliki potensi tinggi untuk digunakan pada industri setelah dilakukan pemisahan. Protein yang telah dipisahkan dapat digunakan dalam industri makanan dan farmasi atau setelah dimodifikasi dengan enzim. Ovalbumin banyak digunakan sebagai nutrisi atau suplemen (Nurcholis, Suprobowati, 2018).

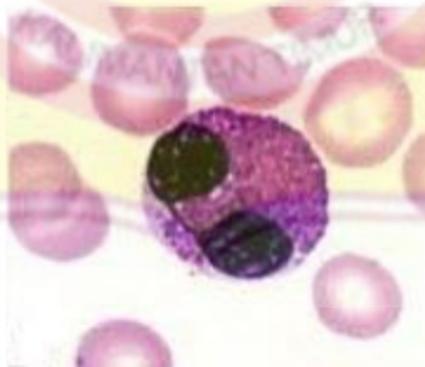
Sensitivitas dengan ovalbumin baik secara inhalasi, oral maupun intraperitoneal terbukti dapat merubah kecenderungan respon imun mencit ke arah Th2. Ovalbumin (OVA) merupakan alergen spesifik dari protein putih telur, apabila disuntikkan secara intraperitoneal pada hewan coba akan menyebabkan sensitisasi alergi sistemik, akibat terjadinya pergeseran respon imun ke arah Th2 dominan dan dilanjutkan melalui inhalasi terbukti meningkatkan aktivasi Th2 dominan dalam mekanisme ketidakseimbangan Th1-Th2. Kondisi Th2 dominan meningkatkan produksi IgE spesifik dan degranulasi sel mast dan sel basofil, sehingga dilepaskan berbagai mediator inflamasi, berupa IL-4, IL-13, IL-5, dan eosinofil sebagai reaksi alergi. Eosinofil mengandung berbagai protein toksik yang dapat merusak jaringan (Setyani, 2012).

C. Eosinofil

1. Morfologi Sel Eosinofil

Eosinofil adalah jenis leukosit yang bersifat eosinofilik, sehingga mudah dikenali dari sitoplasmanya yang berwarna (merah muda) dengan granul yang jelas, dan besar. Nukleusnya memiliki 2 lobus, tetapi terkadang juga ditemukan lagi lobus ketiga yang berukuran kecil. Sel eosinofil adalah sel leukosit polimorfonuklear dengan ukuran 12-17 μ m. Eosinofil berjumlah sekitar 2-4% dari jumlah total leukosit. Nukleus eosinofil hampir menyerupai nukleus neutrofil, tetapi mempunyai jumlah lobus yang lebih sedikit. Eosinofil berperan dalam proses inflamasi, penyakit parasitik, dan alergi (Satyaningtijas *et al.*, 2014).

Eosinofil memiliki fungsi berbeda dari leukosit lainnya. Eosinofil akan meningkat pada keadaan alergi, seperti asma dan *hay fever* dan pada keadaan infeksi oleh parasit, seperti cacing maupun bakteri. "Eosinofil merupakan leukosit granulositik polimorfonuklear. Eosinofil menyumbang jumlah 1-4% dari keseluruhan leukosit yang bersirkulasi. Eosinofil memiliki ciri fenotip nukleus yang bilobus (dua lobus) dan granul sitoplasmik asidofilik yang menyebabkan warna sitoplasma eosinofil pada pewarnaan *Hematoxylin Eoscin* (HE) cenderung kemerahan."



Gambar 2. 1 Sel Eosinofil

Sumber : (Nurcholis, Suprobowati, 2018)

2. Aktivasi Eosinofil

Mekanisme yang mengatur aktivasi eosinofil terjadi dalam tiga fase. Fase pertama adalah pengaturan proliferasi dan diferensiasi di dalam sumsum tulang oleh GM-CSF dan IL-3. Aktivasi limfosit T helper 2 (TH2) menyebabkan dilepaskannya IL-5, yang bekerja meningkatkan proliferasi eosinofil di dalam sumsum tulang dan mendorong dilepaskannya pool eosinofil dari dalam sumsum tulang ke dalam sirkulasi darah. Distribusi eosinofil ke jaringan memerlukan *chemoattractant* terutama eotaksin. Eotaksin dilepaskan oleh sel-sel epitel jalan nafas, sel otot polos dan fibroblas di bawah stimulasi IL-4, IL-13 dan *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) yang berasal dari TH2 dan sel mast. Eotaksin adalah kemokin spesifik untuk eosinofil. Fase ketiga dari aktivasi eosinofil adalah degranulasi dan dilepaskannya protein granula. Degranulasi terjadi pada saat eosinofil terekspos dengan mediator inflamasi seperti *platelet activating factor* (PAF) atau dengan molekul kompleks ikatan antigen-antibodi yang merupakan kompleks imun. Protein granula yang toksik dilepaskan ke ruang ekstraselular dan dapat menimbulkan kerusakan pada sel-sel epitel (Jalal, 2005).

3. Fisiologi Eosinofil

Migrasi eosinofil dari sirkulasi ke jaringan melibatkan tahapan interaksi antara eosinofil dan sel endotel yang diperantarai molekul adhesi pada sel endotel dan pengikat pada eosinofil dan selanjutnya diikuti oleh pergerakan eosinofil antara sel endotel. Eosinofil menempel pada endothelium diperantarai oleh tiga selectin (molekul adhesi pada sel endotel) dan pengikat yang sesuai. Perjalanan eosinofil sirkulasi pada endotel diperantai oleh P-selection. Setelah aktivasi seluler (misalnya paparan terhadap kemoatraktan seperti *platelet-activating factor* atau eotaxin), eosinofil menempel dengan kuat pada endotel melalui molekul adhesi dari kelompok integrin.

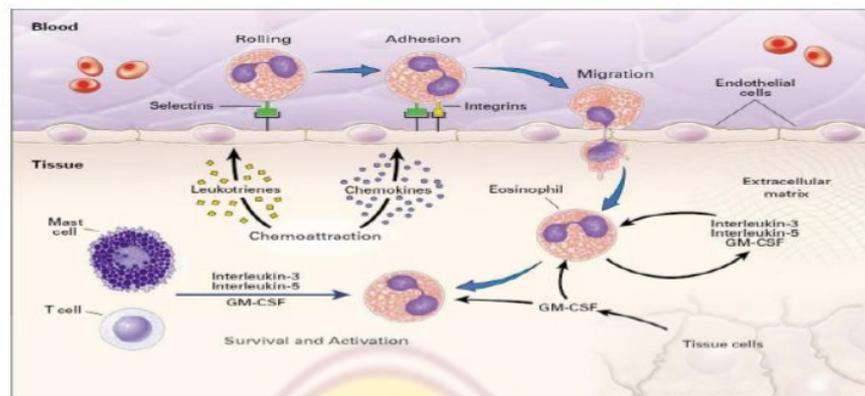


Figure 1. Processes involved in Eosinophilia.
Eosinophils develop in the bone marrow in response to the stimulation of progenitor cells by interleukin-5. Mature eosinophils in the peripheral blood adhere to endothelial cells through the interaction of selectins and integrins (CD18 and very late antigen 4) with endothelial receptors for these molecules. On exposure to chemoattractant mediators, eosinophils undergo diapedesis between endothelial cells and migrate into the tissues. The accumulation of eosinophils is regulated by the generation of survival and activation factors (interleukin-3, interleukin-5, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor [GM-CSF]) by T cells and probably mast cells. In response to extracellular-matrix components, eosinophils themselves can also generate the cytokines that prolong their survival.

Gambar 2. 2 Proses eosinophilia

Sumber : (Syahrini, 2011)

Migrasi eosinofil ke jaringan diawali oleh molekul kemoatraktan lokal. Molekul-molekul ini bertanggung jawab terhadap dua keadaan fisiologis yaitu dimana eosinofil secara langsung masuk ke dalam lamina propria dan penerahan eosinofil ke jaringan inflamasi. Sejumlah substansi kemotaktik bekerja pada eosinofil, termasuk turunan asam arakidonat seperti leukotrien B₄, mediator lemak lainnya seperti platelet activating factor, produk bakteri, interleukin (misalnya IL-16), dan berbagai kemokin. Meskipun seluruh substansi ini memperantarai penerahan eosinofil, tetapi kebanyakan tidak selektif terhadap eosinofil. Walaupun begitu, ada dua kemokin yang baru dijelaskan, eotaxin-1 dan eotaxin-2, secara relative spesifik untuk eosinofil.

Eosinofil dapat bertahan di jaringan untuk waktu yang panjang, tergantung pada sitokin pada lingkungannya. Interleukin-3 (IL-3), IL-5 dan *granulocyte-macrophage* colony stimulating factor (GM-CSF) merupakan pengatur yang penting untuk perkembangan eosinofil. Dari ketiga sitokin tersebut, IL-5 (yang juga dikenal sebagai factor diferensiasi eosinofil) merupakan yang paling spesifik terhadap turunan eosinofil dan bertanggung jawab terhadap diferensiasi selektif eosinofil. IL-5 juga memperngaruhi pengeluaran eosinofil dari sumsum tulang ke sirkulasi perifer. Hanya eosinofil dan basofil memiliki reseptor untuk IL-3, IL-5, dan GM-CSF sebagai prekursor sel pada sumsum tulang dan sirkulasi sel. Pada

eosinofil terdapat peran IL-3, IL-5 dan GM-CSF untuk menghambat apoptosis eosinofil untuk sedikitnya 12-14 hari secara *in vitro* dan di dalam explant (jaringan yang diambil dari tubuh dan dibiakkan di media buatan) jaringan sinus yang alergi. Dan sebaliknya eosinofil bertahan kurang dari 48 jam tanpa adanya sitokin-sitokin tersebut. Eosinofil jaringan dapat juga mengatur ketahanan hidupnya sendiri melalui jalur autokrin (Syahrini, 2011).

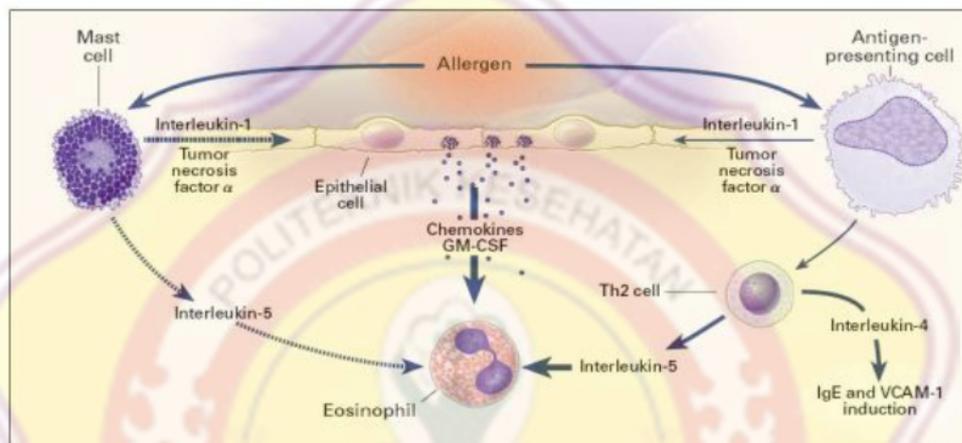


Figure 2. Events Leading to Eosinophilia during Late-Phase Responses.

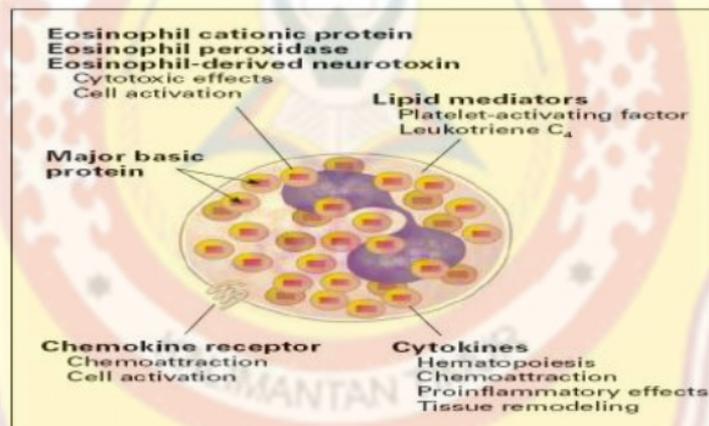
After allergen exposure in sensitized subjects, two non-mutually exclusive pathways are thought to lead to the accumulation of eosinophils. In one pathway, allergen exposure results in the cross-linking of IgE receptors on mast cells and basophils and the immediate release of inflammatory mediators (histamine, prostaglandin, and leukotrienes). Mast cells then generate proinflammatory cytokines (e.g., interleukin-1 and tumor necrosis factor α) that induce respiratory epithelial cells to produce eosinophil-directed cytokines (e.g., granulocyte-macrophage colony-stimulating factor [GM-CSF]) and chemokines. In the other pathway, allergen is initially recognized by antigen-presenting cells such as dendritic cells and subsequently presented to type 2 helper T lymphocytes (Th2 cells). In contrast to mast cells, which do not appear to be required for the accumulation of eosinophils (indicated by the hatched arrows), Th2 cells are necessary for their accumulation (indicated by the solid arrows). These cells regulate allergic reactions by generating the eosinophil hematopoietin (interleukin-5) as well as interleukin-4, which induces IgE and vascular-cell adhesion molecule 1 (VCAM-1).

Gambar 2.3 Mekanisme eosinofilia selama respon fase lambat

Sumber : (Syahrini, 2011)

Setelah paparan alergen, banyak pasien yang alergi memiliki respon klinis yang progresif yang dimulai dalam jangka waktu 3-4 jam, mencapai puncaknya sekitar 8 jam dan mereda dalam beberapa hari. Proses ini dikenal sebagai respon fase lambat, diikuti dengan influks sel inflamasi yang mengandung banyak eosinofil (gambar 2.3). komponen inflamasi dari respon tersebut diyakini bertanggung jawab terhadap inflamasi kronik pada pasien dengan paparan ulang terhadap alergen (misalnya debu rumah). Eosinofil dibawah kendali sel T yang merupakan sel efektor yang esensial pada respon fase lambat.

Sel mast berperan pada awal kejadian setelah paparan alergen, tetapi kepentingannya dalam pengaturan eosinofil masih belum ditentukan. Setelah IgE yang teracetus mengalami aktivasi, sel mast dapat menyebabkan inflamasi pada saluran nafas bersama eosinofil dengan menghasilkan mediator proinflamasi (seperti IL-1 dan TNF- α) dan secara langsung sitokin eosinofil (seperti IL-4 dan IL-5). Substansi-substansi ini, menginduksi kemokin yang menarik eosinofil. Sementara sel limfosit T helper diperlukan untuk respon fase lambat, karena mereka menghasilkan tiga sitokin yang menyebabkan respon alergi yaitu IL-4 dan IL-13 (keduanya mengatur produksi IgE dan VCAM-1), dan IL-5. Sel helper yang mengatur respon ini adalah TH2. Sel penyaji antigen tidak hanya mengaktifkan sel TH2 tetapi juga mengsekresikan mediator proinflamasi dengan menginduksi sel tempat tinggal (misalnya sel epitel) untuk memproduksi kemokin yang menarik eosinofil (Syahrini, 2011).



Gambar 2. 4 Eosinofil dan isinya

Sumber : (Syahrini, 2011)

Satu eosinofil tiba pada fokus inflamasi, selanjutnya mengalami apoptosis dengan bersihan yang cepat oleh makrofag, tetapi jika eosinofil distimulasi oleh IL-3, IL-5, dan GM-CSF, maka eosinofil akan bertahan pada waktu yang panjang dan meningkatkan respon terhadap agen aktif lainnya. Eosinofil yang teraktivasi mengekspresikan sejumlah reseptor terhadap sitokin, imunoglobulin, dan komplemen. Eosinofil menghasilkan mediator inflamasi toksik unik, yang

tersimpan di dalam granula dan disintesis setelah sel teraktivasi. Granula-granula tersebut mengandung inti kristaloid yang terbuat dari protein dasar utama dan matriks yang terbuat dari protein kationik eosinofil, neurotoksin yang diperoleh dari eosinofil, serta eosinofil peroksidase (Gambar 2.4). Protein-protein kationik ini termasuk bagian dari proinflamasi tetapi berbeda jalur. Sebagai contoh, pada konsentrasi yang sama dengan cairan pada pasien dengan eosinofilia, protein dasar utama, eosinofil peroksidase, dan protein kationik eosinofil memiliki efek sitotoksik pada epitel saluran nafas. Sebagai tambahan, protein kationik eosinofil dan neurotoksin yang berasal dari eosinofil merupakan ribonuklease. Protein kationik eosinofil dapat menyebabkan tidak sensitifnya voltase, pori-pori ini dapat memfasilitasi masuknya molekul-molekul toksik lainnya. Protein dasar utama secara langsung meningkatkan reaktivitas otot polos yang menyebabkan disfungsi reseptor vagal muskarinik M2. Hal tersebut juga mencetuskan degranulasi sel mast dan basofil.

Selain itu, eosinofil juga menunjukkan kaskade inflamasi dengan memproduksi kemoatraktan sendiri (misalnya RANTES – *regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted*, eotaxin, platelet activating factor), yang meningkatkan pengerahan eosinofil ke dalam fokus inflamasi. Kerusakan lebih jauh dapat disebabkan oleh hidrogen peroksida dan asam halida yang dihasilkan oleh eosinofil peroksidase, dan superoksida yang dihasilkan oleh ledakan pada saluran nafas – jalur oksidasi pada eosinofil. Eosinofil juga menghasilkan jumlah besar sisteinil leukotrien, leukotrien C4, yang dimetabolisme menjadi leukotrien D4 dan leukotrien E4. Ketiga mediator lemak ini merupakan substansi reaksi lambat anafilaksis yang meningkatkan permeabilitas vaskuler dan sekresi mukus dan stimulator yang baik terhadap kontraksi otot polos. Pada akhirnya, eosinofil yang teraktivasi menghasilkan banyaknya sitokin inflamasi yang berpotensi untuk mengatur banyak aspek respon imun (Syahrini, 2011).

D. Daun Sungkai

1. Taksonomi dan Morfologi

Dapat diketahui bentuk dari daun (*Peronema canescens*) menyirip berhadapan, bentuk lanset dengan panjang 8- 12 cm, lebar 2-3,5 cm, ujung runcing, tepi rata, daun muda berwarna ungu, bagian bawah berbulu putih. Letak bunga berpasangan, kedudukan malai, warna putih kehijauan. Tanaman *Peronema canescens* berbuah sepanjang tahun, ukuran buah kecil-kecil. Sungkai (*Peronema canescens*) termasuk famili *Verbenaceae*, sungkai merupakan salah satu tumbuhan asli Kalimantan (Badiaraja, 2014).



Gambar 2. 5 Daun Sungkai (*Peronema canescens*)

Sumber : (Yunedi, 2020)

Bentuk batang pohon lurus dengan lekuk kecil. Kulitnya berwarna abu-abu beralur dangkal, mengelupas kecil-kecil dan tipis. Penampang kulit luar berwarna cokelat, kuning, atau merah muda. Kayunya berteras dengan warna sawo muda dan menyerupai kayu jati dan mempunyai alur, rantingnya penuh dengan bulu-bulu halus (18). bunga dalam kedudukan malai, cabangnya lebar-lebar dan letaknya berpasangan, panjang 20-40 cm. Bunga letaknya hampir duduk, kelopak bunga agak tertutup rapat dan berbulu. Ukurannya $\frac{1}{2}$ mm-2 mm, warnanya hijau pada pangkal (15). Kayu teras berwarna krem atau kuning muda, warna kayu gubal sukar dibedakan dengan kayu teras. Tekstur kayu kasar dan tidak merata. Arah serat lurus, kadang-kadang agak bergelombang. Permukaan kayu agak mengkilap (Yunedi, 2020).

Secara umum, klasifikasi ilmiah dari tanaman *Peronema canescens* adalah sebagai berikut :

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

2. Pemanfaatan Daun Sungkai

Dapat diketahui bahwa penggunaan daun sungkai *Peronema canescens* oleh masyarakat tertentu sebagai obat. Dari hasil penelitian identifikasi tanaman obat tradisional suku Lembak Delapan di Bengkulu, diketahui bahwa daun muda *Peronema canescens* merupakan bahan baku obat herbal untuk menurunkan panas (antipiretik). Dalam pengobatan suku serawai daun *Peronema canescens* ditumbuk dan ditampal untuk sakit memar maupun luka. Sadapan air batang *Peronema canescens* diminum sebagai obat cacar di daerah Palembang, Sumatera Selatan, digunakan untuk obat sakit demam atau penurunan panas. Dalam pengobatan suku Dayak Tunjung di Kalimantan Timur, daun muda *Peronema canescens* digunakan sebagai obat demam sedangkan akarnya sebagai obat diuretika dan pegal linu serta dapat juga digunakan oleh penduduk lokal di daerah Curup, Bengkulu sebagai obat penyakit malaria.

3. Pembuatan Infusa Daun Sungkai

1. Diambil daun sungkai sesuai dengan kriteria (Segar dan tidak terlalu tua).
2. Dilakukan Pengeringan daun sungkai dengan menggunakan oven pada suhu 40°C.
3. Setelah kering di haluskan daun sungkai dengan menggunakan belender.
4. Setelah diblender dimasukkan kedalam beaker glass.
5. Selanjutnya ditimbang menggunakan neraca digital sebanyak 1 gram dan beri aquadest 3 ml.
6. Daun sungkai siap untuk dioleskan.

E. Mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) adalah salah satu hewan animalia yang sering digunakan di laboratorium karena hewan ini mampu berkembang biak dengan cepat dan dalam jumlah yang cukup besar selain itu hewan ini juga memiliki ciri-ciri sebagai berikut: jinak, takut terhadap cahaya, aktif pada malam hari, mudah berkembang biak, siklus hidup yang pendek, dan tergolong poliestrus (Hasanah, Rusny and Masri, 2015). Jenis kelamin yang sering digunakan adalah mencit jantan karena tidak dipengaruhi oleh hormon dan kehamilan. Dalam percobaan usia mencit yang biasa digunakan adalah 3 bulan dengan berat badan mencit jantan sekitar 20-40 gram (Nilasari, 2005).



Gambar 2. 6 Mencit (*Mus musculus*)

Sumber : (Darmawan, 2014)

Berikut klasifikasi dari mencit (*Mus Musculus*):

1. Kingdom : Animalia
2. Filum : Chordata
3. Kelas : Mamalia
4. Ordo : Rodentia
5. Famili : Murinane
6. Genus : Mus
7. Spesies : *Mus musculus*

Mencit dan tikus memiliki persamaan, yaitu keduanya merupakan hewan nocturnal. Mencit lebih penakut, tetapi lebih social dan territorial dalam. Telinga mencit besar dan tidak kaku. Ukuran mencit lebih kecil dibandingkan

tikus (panjang 12-20 cm termasuk ekor dan mencit dewasa memiliki berat sekitar 20-40 gram). Warna mencit putih, coklat, atau abu-abu. Ekor mencit panjang, tipis, dan berbulu. Sedangkan moncongnya berbentuk segitiga dengan kumis panjang (Rahmayani, Maskoen and Hernowo, 2013).

F. Kerangka Teori

Penelitian ini berdasarkan dari teori bahwa ketika tubuh mengalami alergi, maka akan terjadi reaksi hipersensitivitas atau inflamasi yang dapat dilihat dipermukaan kulit muncul ruam, gatal-gatal, dan nyeri, sedangkan di sirkulasi darah dapat ditandai dengan peningkatan sel eosinofil. Sehingga diuraikan dalam kerangka teori berikut :



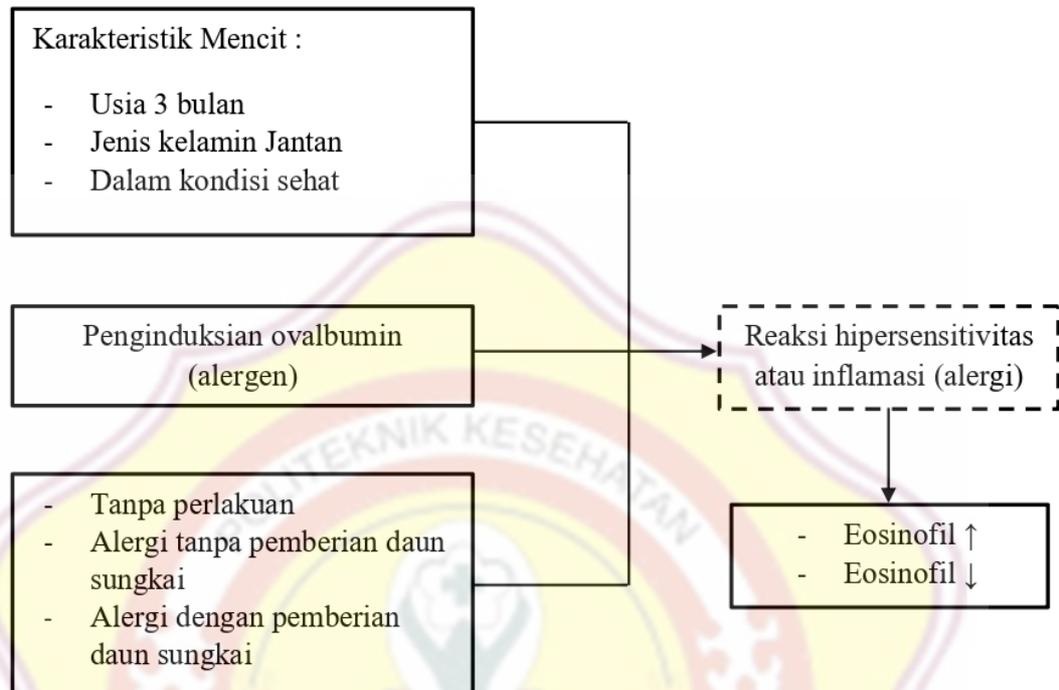
Gambar 2. 7 Kerangka Teori

Keterangan :

↓ = Menurun

↑ = Meningkatkan

G. Kerangka Konsep



Gambar 2. 8 Kerangka Konsep

Keterangan :

- Diteliti
Tidak diteliti
 ↓ = Menurun
 ↑ = Meningkatkan

H. Hipotesis

1. Terdapat kesan jumlah normal pada sel eosinofil mencit sebagai kontrol,
2. Terdapat kesan jumlah tinggi pada mencit alergi tanpa pemberian daun Sungkai (*Peronema canescens*) dan,
3. Terdapat kesan jumlah rendah pada mencit alergi dengan pemberian daun Sungkai (*Peronema canescens*).

BAB III METODELOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen murni (*True Experimen Research*). Rancangan penelitian eksperimen yang digunakan yaitu *The Posttest Only Control Group Design* karena adanya kelompok dan randomisasi yang dimana ada kelompok yang tidak diberi perlakuan yaitu kelompok kontrol tetapi tetap dilakukan pengukuran dan kelompok yang diberi perlakuan yaitu kelompok eksperimen.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

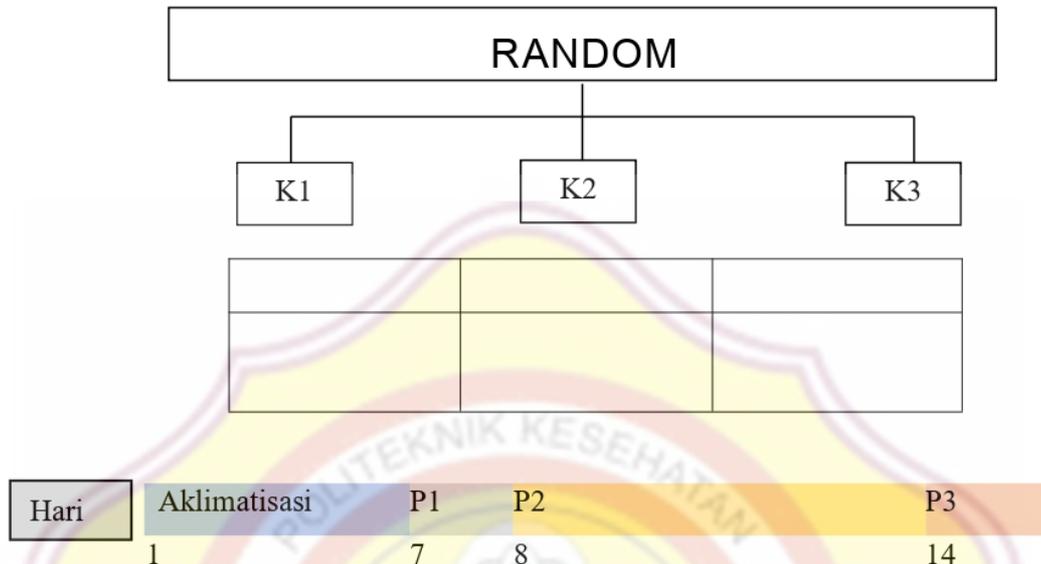
1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dikampus A Politeknik Kesehatan Kementrian Kesehatan Kalimantan Timur. Proses penelitian dilakukan di Laboratorium Hematologi Kampus A Politeknik Kesehatan Kementrian Kesehatan Kalimantan Timur. Untuk pembuatan preparat Histopatologi Kulit mencit dibuat di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Kanujoso Djatiwibowo.

2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian akan dilaksanakn pada minggu I Desember tahun 2022 Sampai minggu I Januari 2023.

C. Desain Penelitian



Gambar 2. 9 Desain Penelitian

Keterangan :

- K1 : Kelompok mencit kontrol tanpa perlakuan.
- K2 : Kelompok mencit alergi.
- K3 : Kelompok mencit alergi dengan pemberian daun sungkai.
- P1 : Perlakuan pertama di hari ke-7 dengan pemberian ovalbumin pada jaringan subkutan kulit pada bagian punggung dekat dengan ekor.
- P2 : Perlakuan kedua di hari ke-8 dengan pemberian daun sungkai.
- P3 : Pemeriksaan jumlah sel eosinofil.

D. Populasi, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

1. Populasi

Penelitian ini menggunakan objek penelitian berupa Mencit (*Mus musculus*) jantan yang diperoleh dari pedagang mencit di daerah Jl. Kh Wahid Hasyim No. 76 blok A (Gg. Kampus biru).

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Mencit (*Mus musculus*) jantan berumur 3 bulan dengan berat badan mencit kisaran 22-30 gram, dalam kondisi sehat yang ditandai dengan bulu mengkilat, gerakan yang aktif yang diperoleh dari penjual mencit di daerah Jl. Kh Wahid Hasyim No. 76 blok A (Gg. Kampus biru).

3. Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan rumus *federer* untuk menentukan jumlah mencit yang akan digunakan yaitu sebagai berikut :

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

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

$$(r-1)(3-1) \geq 15$$

$$(r-1)2 \geq 15$$

$$(r-1) \geq 15/2$$

$$(r-1) \geq 7,5$$

$$r \geq 7,5+1$$

$$r \geq 8,5$$

$$r \geq 9$$

Keterangan :

t = jumlah perlakuan

r = jumlah pengulangan

Berdasarkan rumusan diatas, didapatkan jumlah minimal mencit jantan yang digunakan untuk penelitian yaitu sebanyak 9 ekor mencit untuk masing-masing kelompok dengan menambahkan 1 ekor mencit di tiap kelompok sebagai cadangan. Cadangan adalah $\pm 10\%$ dari total kelompok. Dengan demikian, penelitian ini menggunakan 30 ekor mencit yang dibagi menjadi 3 kelompok yaitu K1 sebanyak 10 ekor mencit, K2 sebanyak 10 ekor mencit, dan K3 sebanyak 10 ekor mencit.

4. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *simple random sampling* (pengambilan acak sederhana) dimana teknik pengambilan sampel dengan cara acak sehingga setiap satuan sampling yang ada dalam populasi mempunyai peluang yang sama untuk dapat dipilih sebagai sampel. Dengan kriteria sampel yaitu mencit jantan berumur 3 bulan dengan berat badan mencit kisaran 22-30 gram, dalam kondisi sehat yang ditandai dengan bulu mengkilat, gerakan yang aktif.

E. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi sebab perubahan pada variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian olesan daun sungkai (*Peronema canescens*).

2. Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat dari adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah eosinofil pada permukaan kulit mencit (*Mus musculus*) jantan alergi setelah pemberian daun sungkai (*Peronema canescens*).

3. Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Kriteria Objektif	Skala Data
Alergi	Reaksi imunitas yang tidak normal pada tubuh mencit yang bereaksi terhadap alergen ovalbumin dengan volume 1 ml.	Alergi atau tidak alergi	Ordinal
Jumlah Sel Eosinofi	Hasil hitung pemeriksaan jumlah sel eosinofil pada permukaan kulit mencit jantan kontrol, alergi, setelah pemberian olesan daun sungkai menggunakan mikroskop binokuler pada 10 lapang pandang.	Nilai normal 0-4%	Rasio
Daun Sungkai	Daun sungkai (<i>Paronema canescens</i>) dioleskan secukupnya pada punggung mencit jantan alergi selama 1 minggu setiap pagi dan sore. Pembuatan daun sungkai menggunakan perbandingan 1:3 daun sungkai dan aquadest	Infusa Daun Sungkai	Ordinal

F. Alat, Bahan, dan Prosedur Kerja

1. Bahan Penelitian

- Hewan coba berupa 30 ekor mencit jantan berumur 3 bulan dengan berat 22-30 gram dalam kondisi sehat.

2. Pakan mencit.
3. Air minum mencit.
4. Aquadest.
5. Alkohol konsentrasi 100%, 95% dan 75%.
6. Paraffin cair.
7. Hematoksilin.
8. Eosin.
9. *Entellan*.
10. *Xylol*.
11. Ovalbumin.
12. *Neutral buffer formalin* 10%.
13. Sekam padi.
14. Tisu.
15. Label.

2. Alat Penelitian

1. Kandang mencit berukuran 30 x 25 x 10 cm berjumlah 6 buah.
2. Botol atau dot air minum untuk mencit berjumlah 6 buah.
3. *Object glass*.
4. *Cover glass*.
5. *Tissue*.
6. Jarum 1 cc.
7. Mortar dan alu.
8. Neraca analitik.
9. Pinset.
10. Pisau bedah.
11. Gunting.
12. Histopot.
13. *Tissue kaset*.
14. *Base mold*.
15. Alat mikrotom.
16. Hotplate.
17. Waterbath.
18. Mikroskop Binokuler.

3. Prosedur Penelitian

a. Persiapan Hewan Coba

Sebelum dilakukan penelitian maka akan dilakukan persiapan hewan coba dengan langkah sebagai berikut :

1. Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah Mencit (*Mus musculus*) jantan berumur 3 bulan dengan berat badan 22-30 gram, dalam kondisi sehat yang ditandai dengan bulu mengkilat, gerakan yang aktif sebanyak 30 ekor.
2. Mencit ditempatkan pada kandang berupa bak plastik berukuran 30 x 25 x 10 cm yang ditutup dengan anyaman kawat dan beralaskan sekam berjumlah 6 buah tiap bak berisi 5 ekor mencit.
3. Dilakukan masa aklimatisasi selama (7 hari).

4. Mencit di dalam kandang tersebut harus ditempatkan dalam ruangan yang terisolasi dan terkunci dengan ventilasi udara yang baik, serta penerangan yang cukup.
5. Suhu optimum ruangan untuk mencit adalah 18-26⁰C ventilasi yang cukup.
6. Selama masa aklimatisasi, mencit diberi pakan dan minum sebanyak 2 kali yaitu pagi dan sore hari.

b. Pengelompokkan dan Perlakuan

Selanjutnya masuk pada proses pengelompokkan dan perlakuan dengan proses sebagai berikut :

1. Setelah mencit di letakkan dalam kotak berupa bak plastic UK 30x 25 x 10 cm yang ditutup dengan anyaman kawat dan beralaskan sekam, selanjutnya masing – masing kelompok di berikan perlakuan.
2. Perlakuan pertama yaitu penyuntikan ovalbumin dilakukan dalam waktu yang bersamaan dimana setelah dilakukan penyuntikan mencit di beri label/tanda dan dicatat waktunya kecuali kelompok kontrol.
3. Kelompok dengan kotak 1 berlabel kontrol tidak diberikan perlakuan.
4. Kelompok dengan Kotak 2 berlabel ovalbumin diinduksi dengan menggunakan ovalbumin satu kali dalam 7 hari perlakuan.
5. Kelompok dengan Kotak 3 berlabel ovalbumin + daun sungkai, mencit diinduksi dengan menggunakan ovalbumin dan diberi olesan daun sungkai pagi dan sore hari selama 7 hari berturut-turut.
6. Setelah memasuki hari ke-7, dilakukan pembedahan pada hewan coba untuk pengambilan sampel kulit mencit alergi.
7. Selanjutnya dilakukan pembuatan preparat Histopatologi(HPA) dan dilakukan pewarnaan dengan Hematoksilin eosin (HE).
8. Setelah itu dilakukan pembacaan hasil secara mikroskopis menggunakan mikroskop binokuler perbesaran 10x,40x dan 100x pada tiap kelompok perlakuan dan tiap sampel didokumentasikan lalu disimpan sesuai dengan pengelompokkan.

c. Pengambilan Sampel Kulit

Setelah dilakukan perlakuan sekama 7 hari, proses selanjutnya yaitu pengambilan sampel kulit, dengan proses sebagai berikut :

1. Jaringan kulit diambil setelah 7 hari perlakuan
2. Dilakukan pembiusan terlebih dahulu pada mencit menggunakan campuran ketamin mononitrate 0,05 mg dan aquabidest 1 ml sebanyak 0,2 ml.
3. Kemudian diambil jaringan kulit yang mewakili dan dimasukkan dalam pot formalin 10%.
4. Selanjutnya dibuat preparat dengan metode histopatologi menggunakan pewarnaan hematoksilin eosin (HE).

d. Pembuatan Preparat dan Pewarnaan Histopatologi

Pembuatan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Kanujoso Djatiwibowo, Histopatologi Anatomi (HPA) adalah pemeriksaan jaringan pasca operasi. Jaringan setelah dipisahkan dengan tubuh harus segera dimasukkan ke dalam *Neutral buffer formalin* 10%. Tahapan dalam HPA sebagai berikut :

1. Grossing

Di potong jaringan kulit secara melintang dan dipilih bagian yang mewakili. Dipotong dengan ukuran 2×3 cm. Setelah itu dimasukkan kedalam tisu kaset. Kemudian masukan kedalam *tissue processor* selama ± 17 jam.

2. Fiksasi

Sediaan kulit dimasukan kedalam larutan formalin buffer (*neutral buffer formalin* 10%) yang bertujuan untuk memberhentikan aktifitas sel agar tidak membelah dan mencegah jaringan/sel mengalami pembusukan. Fiksasi jaringan dilakukan selama kurang lebih 24 jam.

3. Dehidrasi dan Clearing

Masukkan sediaan kulit dalam alkohol bertingkat (75%, 80%, 95%, 100%) untuk mengeluarkan sisa cairan dalam jaringan. Kemudian masukan sediaan ke dalam larutan xylol agar jaringan menjadi lebih jernih dan transparan serta mengeluarkan sisa-sisa alkohol.

4. Parafinasi dan Embedding

Dilanjutkan dengan proses pencetakan atau parafinasi menggunakan paraffin cair. Sediaan kulit dimasukan ke dalam cetakan (*base mould*) yang berisi paraffin setengah volume dan susun jaringan dengan rapi tidak bertumpuk, setelah itu tutup dengan *tissue kaset*. Isi dengan paraffin lagi dalam pencetak (*base mould*) hingga hampir terisi penuh dan dinginkan 5-10 menit hingga mengeras. Lalu siap digunakan dan dilakukan proses mikrotom.

5. Mikrotomik

Setelah blok paraffin mengeras dilakukan pemotongan setebal 2-5 μm menggunakan mikrotom. Hasil potongan yang berbentuk pita tersebut dibentangkan di atas waterbath yang bersuhu 50°C dan langsung diangkat untuk meregangkan potongan agar menghilangkan lipatan akibat dari pemotongan. Sediaan tersebut kemudian diangkat dan diletakkan di atas hotplate dengan suhu 60°C agar sediaan tadi menempel dengan sempurna.

6. Staining Hematoksilin Eosin (HE)

Staining bertujuan untuk memudahkan pengamatan menggunakan mikroskop dan membedakan bagian-bagian jaringan yang akan diamati seperti inti sel, sitoplasma, dan lain-lain (Ellyawati, 2018). Pewarnaan sediaan menggunakan hematoxilin dan eosin. Pewarna eosin digunakan untuk mewarnai sel darah atau sitoplasma pada sampel. Staining dilakukan dengan tahap :

- a) Defarinasasi dengan menggunakan xylol untuk menghilangkan atau melarutkan paraffin yang ada pada jaringan.

- b) Rehidrasi menggunakan alkohol 75%, 95%, dan 100% untuk memasukkan air ke dalam jaringan, mengisi rongga yang kosong dalam jaringan.
- c) Hematoxylyn, bertujuan untuk mewarnai inti sel.
- d) Eosin, bertujuan untuk mewarnai sitoplasma.
- e) Dehidrasi dengan menggunakan alkohol bertingkat 80%, 90%, 100% untuk mengeluarkan air dalam jaringan dan menghilangkan sisa-sisa eosin.
- f) Clearing menggunakan xylol I dan xylol II untuk menghilangkan atau membersihkan sisa-sisa alkohol pada jaringan.

7. Mounting

Proses penempelan coverglass pada kaca preparat dengan menggunakan cairan pekat yang disebut *entellan* yang bertujuan untuk menjaga sediaan agar tetap awet.

G. Pemeriksaan Mikroskopis Kulit Mencit

Selanjutnya pembacaan hasil yang dilakukan dengan bimbingan dosen/PLP Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Kaltim yaitu dengan cara pembacaan secara mikroskopis pada preparat histopatologi kulit mencit menggunakan mikroskop binokuler perbesaran 10×, 40×, 100×, dan hasil pada tiap sampel didokumentasikan dan disimpan sesuai dengan pengelompokkan.

H. Pengumpulan Data

Pada penelitian ini data yang dikumpulkan yaitu data primer. Data primer didapatkan sendiri oleh peneliti pada saat penelitian berlangsung yaitu berupa hasil pembacaan jumlah sel eosinofil yang dilakukan di Laboratorium Hematologi Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Kalimantan Timur.

I. Analisis Data

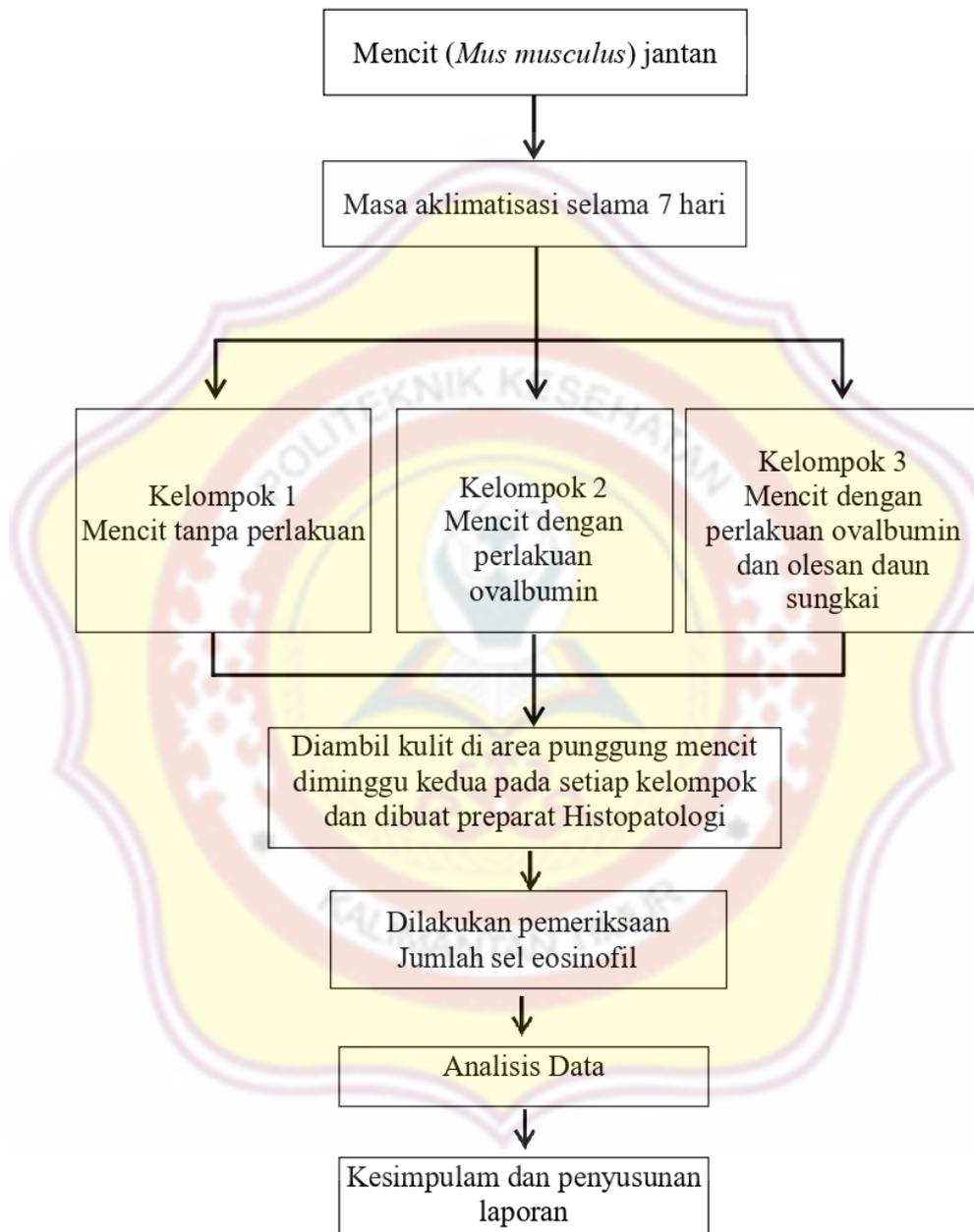
1. Analisis Univariat

Analisis univariat dilakukan dengan menggunakan tabel distribusi frekuensi dan statistik deskriptif untuk mengetahui nilai rata-rata, nilai maksimum dan nilai minimum. Berdasarkan tabel 4.1 mencit terbagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol(K1), kelompok alergi(K2), dan kelompok alergi dengan olesan sungkai(K3) dimana tiap kelompok berjumlah 9 ekor. Pada tabel 4.1 didapatkan hasil nilai rata-rata jumlah sel eosinofil untuk kelompok K1 yaitu berjumlah 1 dan nilai minimal-maximal nya 0-2 sel eosinofil, selanjutnya K2 didapatkan nilai rata-rata jumlah eosinofil 12 sel dengan nilai minimal-maximal nya 9-15 sel eosinofil, dan yang terakhir K3 dimana jumlah rata-rata sel eosinofil yaitu 15 sel dengan nilai minimal-maximal nya 12-18 sel eosinofil.

2. Analisis Bivariat

Berdasarkan hasil data yang telah didapatkan maka dilanjutkan uji bivariat. Namun Setiap data yang didapat terlebih dahulu ditentukan dengan Uji Normalitas menggunakan Uji Saphiro Wilk pada penelitian ini didapatkan distribusi data normal dimana p value > 0.05 sehingga dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* yang digunakan sebagai uji beda dari 3 kelompok perlakuan yang tidak berpasangan. Berdasarkan tabel 4.2 dimana 3 kelompok dilakukan uji statistika menggunakan *one way anova* dan didapatkan nilai p 0.000 dimana nilai p value tersebut < 0.05 yang menunjukkan adanya pengaruh pemberian olesan daun sungkai terhadap jumlah eosinofil pada kulit mencit alergi yang di induksi ovalbumin.

J. Kerangka Operasional



Gambar 3.1 Kerangka Operasional

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Perlakuan Pada Mencit

Mencit jantan yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari pedagang mencit di daerah Jl. Kh Wahid Hasyim No. 76 blok A (Gg. Kampus biru). Mencit ditempatkan pada kandang berupa bak plastik yang disimpan dalam ruangan yang terisolasi dan terkunci dengan ventilasi udara yang baik, serta penerangan yang cukup lalu mencit di aklimatisasi selama 7 hari. Selama masa aklimatisasi dan masa perlakuan mencit juga harus diberi pakan dan minum. Setelah masa adaptasi dilakukan perlakuan yaitu mencit di induksi ovalbumin pada bagian subkutan kulit pada bagian punggung dekat dengan ekor, dengan dosis 1 ml per ekor mencit yang di beri perlakuan alergi dan mencit alergi dengan pemberian daun sungkai nantinya. Lalu mencit di isolasi selama 24 jam tanpa ada perlakuan untuk melihat reaksi alergi yang mungkin dapat terjadi, setelah 24 jam mencit jantan yang telah di induksi ovalbumin lalu diberikan olesan daun sungkai pada bagian subkutan kulit yang terindikasi adanya inflamasi mulai dari hari ke-8 hingga hari ke-14 setiap pagi dan sore. Setelah memasuki hari ke-14, dilakukan pemeriksaan jumlah sel eosinofil.

Penelitian ini dilakukan pada minggu ke-1 sampai minggu ke-4 bulan Januari 2023, di Laboratorium Hematologi Poltekkes Kemenkes Kaltim jurusan Teknologi Laboratorium Medis dengan jumlah sampel 27 ekor mencit jantan yang terbagi menjadi 3 kelompok, kelompok pertama adalah mencit kontrol yaitu tanpa perlakuan, kelompok kedua merupakan mencit alergi dengan perlakuan ovalbumin tanpa pemberian daun sungkai, dan kelompok yang ketiga merupakan kelompok mencit alergi dengan perlakuan ovalbumin dengan pemberian daun sungkai. Adapun hasil yang didapatkan pada penelitian ini berupa data primer yang akan dianalisis secara uji univariat dan bivariat sebagai berikut:

2. Analisis Uji Univariat

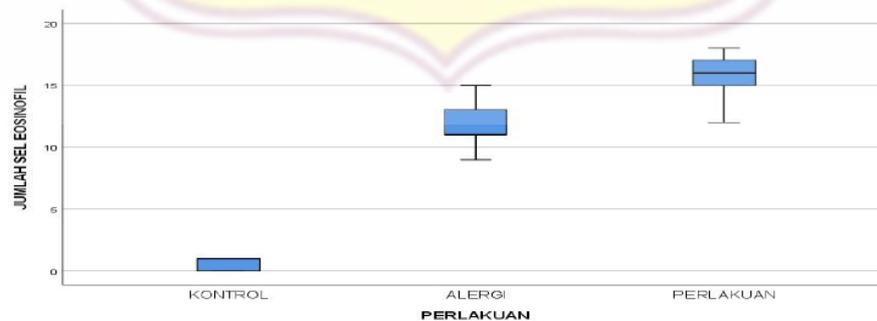
Pada penelitian kali ini, peneliti melakukan pemeriksaan jumlah sel eosinofil menggunakan preparat HE secara mikroskopis pada 3 kelompok percobaan dengan bimbingan dosen/PLP Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Kaltim. Sehingga didapatkan hasil Analisis Uji Univariat , sebagai berikut :

Tabel 4.1 Jumlah Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Sel Eosinofil Mencit Kontrol, Mencit Alergi dan Mencit Alergi dengan Olesan Daun Sungkai Pada Hari ke-14

	K1	K2	K3
Jumlah Mencit	9	9	9
Rata-rata Jumlah Sel Eosinofil	1	12	15
Nilai Min – Max Sel Eosinofil	0-2	9-15	12-18

Sumber: *Data primer, 2023*

Berdasarkan tabel 4.1 didapatkan hasil pada hari ke-14, yaitu hasil rata-rata jumlah sel eosinofil pada kelompok K1 Kontrol memiliki jumlah rata-rata normal yaitu 1, lalu pada kelompok K2 Alergi (Ovalbumin) memiliki jumlah rata-rata sel eosinofil abnormal yaitu 12, kemudian kelompok K3 Alergi yang di beri olesan infusa daun sungkai (*Paronema canescens*) memiliki jumlah rata-rata sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K2 Alergi (Ovalbumin).



Gambar 4.1 Grafik Hasil Pemeriksaan Jumlah Sel Eosinofil

3. Analisis Uji Bivariat

Data yang didapatkan pada penelitian ini diolah menggunakan uji normalitas terlebih dahulu. Hasil uji normalitas menunjukkan pengolahan data yang dianalisis normal (p value >0.05). sehingga dilanjutkan dengan uji parametrik *One way Anova*. Hasil uji pengaruh pemberian olesan infusa daun sungkai (*Paronema canescens*) terhadap jumlah sel eosinofil kulit mencit alergi adalah sebagai berikut:

Tabel 4.2 Uji Pengaruh Pemberian Daun Sungkai (*Paronema canescens*) Terhadap Jumlah Sel Eosinofil Pada Kulit Mencit (*Mus muscullus*) Alergi Dari Induksi Ovalbumin

Kelompok Perlakuan	Nilai P	Makna Uji
Kontrol Alergi Infusa daun sungkai	0.000	Ada pengaruh Pemberian olesan infusa daun sungkai terhadap mencit alergi

Sumber : *Data Primer, 2023*

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan hasil uji statistik menggunakan uji *One Way Anova* terhadap jumlah sel eosinofil pada kulit mencit alergi setelah pemberian infusa daun sungkai (*Paronema canescens*), didapatkan nilai p value 0.000 nilai p value tersebut <0.05 yang menunjukkan bahwa terdapat pengaruh olesan daun sungkai (*Paronema canescens*) pada kulit mencit alergi.

B. Pembahasan

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah eosinofil pada jaringan kulit mencit kelompok K2 (mencit alergi dengan induksi ovalbumin). Dimana ovalbumin sendiri merupakan alergen yang digunakan untuk menimbulkan reaksi alergi sehingga terjadi peningkatan eosinofil yang berperan saat terjadi inflamasi. Sedangkan untuk kelompok K3

(mencit alergi yang diberi olesan daun sungkai) terjadi sedikit peningkatan eosinofil pada jaringan kulit mencit alergi, dimana pada dasarnya diharapkan dengan pengolesan daun sungkai pada area yang terkena alergi terjadi penurunan jumlah eosinofil tetapi pada penelitian ini malah terjadi peningkatan.

Hasil penelitian ini tidak sesuai dengan teori yang dipaparkan dimana menyatakan bahwa daun sungkai memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid, saponin dan fenolik memiliki aktivitas anti inflamasi. Pada saat terjadinya inflamasi ditandai dengan migrasi sel leukosit dari sirkulasi darah ke bagian yang mengalami peradangan dalam prosesnya sel eosinofil merupakan salah satu sel yang berperan, sedangkan pada penelitian ini setelah diberikan olesan daun sungkai pada kulit mencit alergi terjadi malah terjadi peningkatan.

Senyawa kimia yang terdapat pada tanaman memiliki sifat yang berbeda dalam ketahanan terhadap suatu perlakuan seperti proses pemanasan, metode ekstraksi panas seperti infudasi cocok digunakan untuk senyawa kimia yang termostabil sedangkan metode ekstraksi dingin seperti maserasi cocok untuk senyawa kimia yang termolabil, Beberapa penelitian telah menjelaskan gambaran sifat dari senyawa kimia metabolit sekunder seperti golongan flavonoid atau senyawa fenolik yang bersifat termolabil sehingga apabila digunakan metode ekstraksi panas akan mengakibatkan kerusakan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam daun sungkai. Dimana seharusnya Senyawa flavonoid, saponin, alkaloid dan fenol memiliki aktivitas antiinflamasi yang mana kandungan metabolit sekunder daun tersebut memiliki aktivitas sebagai antioksidan sehingga dapat mencegah kerusakan akibat stress oksidatif (Latief *et al.*, 2021).

Penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian oleh (Nopela sari, 2022) tentang uji aktivitas ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema Canescens Jack*) terhadap penyembuhan luka bakar pada kelinci putih jantan (*Oryctolagus cuniculus*), dan hasil dimana pada penelitian tersebut Ekstrak daun sungkai memiliki aktivitas dalam penyembuhan luka bakar pada kelinci putih jantan yang ditandai dengan peningkatan persentase kesembuhan, penurunan diameter luka bakar serta peningkatan kadar hidroksiprolin kologen dari hewan uji kelinci. Pada

penelitian tersebut menggunakan metode ekstraksi (meiserasi) metode ini dipilih dikarenakan merupakan metode yang sederhana, metode ini menggunakan pemanasan rendah atau tidak menggunakan pemanasan yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam daun sungkai. Hal ini terjadi karena tumbuhan daun sungkai memiliki kandungan senyawa metabolit skunder yang dapat digunakan sebagai anti alergi atau anti inflamasi yang mampu membantu proses penyembuhan luka. Dimana dalam penelitian oleh (Rahmani, 2022) dilaporkan beberapa senyawa metabolit skunder pada daun sungkai yaitu flavonoid, alkaloid, saponin dan fenolik memiliki aktivitas anti inflamasi.

Dalam penelitian ini peneliti berasumsi bahwa terjadinya peningkatan eosinofil dapat di sebabkan oleh beberapa faktor antara lain yaitu berupa faktor primer dan skunder. Faktor primer sendiri disebabkan adanya kondisi human/sampel error yang dapat timbul karena adanya kondisi tertentu dari sampel itu sendiri. Faktor skunder yang mempengaruhi penelitian yaitu menurut peneliti adanya pengaruh dalam pengolahan daun sungkai, karna pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan dalam mengolah daun sungkai yaitu menggunakan infusa, dimana berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa metode ekstraksi (meiserasi) lebih efektif dalam mempertahankan senyawa metabolit skunder pada daun sungkai.

Selanjutnya yang perlu diperhatikan yaitu pada saat pengolesan daun sungkai pada kulit mencit yang terkena alergi, mencit sendiri merupakan hewan mamalia yang memiliki pergerakan yang aktif sehingga memang harus diperhatikan bahwa daun melekat dengan baik menutupi luka alergi dan saat proses pengolesan selama 7 hari ada beberapa mencit yang kulit nya mengalami pengerasan seperti timbul koreng hal ini mungkin disebabkan karena pengolesan sungkai pada punggung mencit alergi tersebut pada penelitian sebelumnya pemberian daun sungkai secara oral mungkin lebih efektif dalam menurunkan aktivitas aniti inflamasi, selain itu kondisi mencit serta lingkungan nya perlu diperhatikan mulai dari kondisi kandang, suhu ruangan, penerangan serta

pemberian pakan mencit. Jaringan kulit yang mengalami alergi diambil dengan pembedahan mencit segera setelah pengambilan dimasukkan dalam pot yang berisi neutral buffer formalin 10% untuk menghindari kerusakan/denaturasi struktur sel atau komponen jaringan kulit mencit tersebut.

C. Keterbatasan Penelitian

Berdasarkan pada pengalaman langsung peneliti dalam proses penelitian ini, ada beberapa keterbatasan yang dialami dapat menjadi beberapa faktor yang perlu diperhatikan bagi peneliti-peneliti yang akan datang yang bertujuan dalam menyempurnakan penelitiannya karna penelitian ini sendiri tentu memiliki kekurangan, beberapa keterbatasan penelitian ini hal yang pertama yaitu dalam proses pengambilan daun dimana lokasi pengambilan daun cukup jauh dan saat pengambilan daun dilakukan sebelum matahari terbit hal ini dikarenakan agar senyawa yang ada pada daun tidak terurai saat terjadi proses fotosintesis, kedua karena keterbatasan biaya dalam pengolahan daun sungkai, digunakan metode ekstraksi infusa dimana dalam proses nya hanya menggunakan aquadest sebagai pelarut nya sehingga biaya yang dikeluarkan dapat terjangkau dibandingkan menggunakan pelarut etanol yaitu metode ekstraksi (meiserasi) hal ini juga dijadikan standar dimana masyarakat awam pada umumnya jika mengolah obat tradisional hanya menggunakan air sebagai pelarutnya.

Pemilihan dalam membeli mencit juga diperhatikan dimana sebaiknya kondisi mencit memang dalam keadaan sehat dan tidak stress agar tidak mempengaruhi hasil penelitian dan kondisi dari kandang mencit juga dapat mempengaruhi kesehatan mencit, mulai dari ukuran kandang, sirkulasi udara yang cukup, penerangan yang baik, pemberian pakan dan minum secara rutin tiap pagi dan sore hari serta kebersihan kandang dengan mengganti sekam mencit secara rutin. Dalam proses pengolesan juga peneliti cukup sulit untuk mempertahankan olesan menutupi area alergi hal ini dikarenakan mencit sendiri hewan mamalia yang memiliki pergerakan yang aktif, yang terakhir pencarian obat bius serta dosis yang digunakan dalam proses untuk pengambilan sampel kulit mencit, di mana pembelian obat bius ini terbatas sehingga memakan biaya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

1. Terjadi peningkatan jumlah sel eosinofil pada jaringan kulit mencit jantan yang diinduksi ovalbumin pada subkutan kulit area punggung mencit pada hari ke-14.
2. Adanya pengaruh pemberian olesan infusa daun sungkai (*Peronema canescens*) berupa terjadi sedikit peningkatan pada jumlah sel eosinofil pada kulit mencit dari induksi ovalbumin hari ke-14 .

B. Saran

1. Bagi peneliti selanjutnya, dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan metode yang berbeda yaitu menggunakan ekstrak (meiserasi) apakah terdapat efek yang lebih signifikan terhadap penurunan jumlah sel eosinofil pada kulit mencit alergi apabila menggunakan ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens*) dibandingkan dengan metode ekstraksi infusa.
2. Diharapkan ada penelitian lebih lanjut mengenai senyawa utama yang terkandung didalam daun sungkai (*Peronema canescens*) yang memiliki potensi dalam penurunan jumlah sel eosinofil pada kulit alergi.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifa, K. (2016) '*Hubungan Manifestasi Alergi dengan Riwayat Pemberian Asi Eksklusif pada Balita di Poli Anak RSUD Dr. R. Sosodoro Djatikoesoemo Bojonegoro*', p. 24. Available at: <http://repository.unair.ac.id/54079/>.
- Anita Chaudhari, Brinzel Rodrigues, S.M. (2016) '*Pengaruh Probiotik Dadih Terhadap Gambaran Histopatologi Kulit Mencit (Mus musculus) Yang Di induksi Ovalbumin*', pp. 390–392.
- Badiaraja, P.H. (2014) '*Uji Potensi Antipiretik Daun Muda Sungkai (Peronema canescens) pada Mencit (Mus musculus) serta Implementasinya dalam Pembelajaran Sistem Imun di SMA*', Skripsi, pp. 1–29.
- Baratawidjaja KG, R.I. (2009) *Imunologi dasar*. 8th edn. Jakarta: Balai penerbit FK UI.
- Carin, A.A. & Sund, R.. and Bhriugu K Lahkar (2011) '*Pengaruh Pemberian Ekstrak Kunyit (Curcuma Longa) Terhadap Jumlah Eosinofil Di Jaringan Paru Pada Penyakit Alergi: Studi Eksperimental Pada Mencit Balb/C yang Diinduksi Ovalbumin*', *Journal of Controlled Release*, 11(2), pp. 430–439.
- Darmawan, R. (2014) '*Uji Aktivitas Antiplasmodium Ekstrak Daun Sungkai (Peronema canescens) Terhadap Mencit Jantan (Mus musculus) Serta Implementasinya Sebagai LKS Pada materi Protista*', Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu, pp. 1–59.
- Hasanah, U., Rusny and Masri, M. (2015) '*Analisis Pertumbuhan Mencit (Mus musculus L.) ICR Dari Hasil Perkawinan Inbreeding Dengan Pemberian Pakan AD1 dan AD2*', *Prosiding Seminar nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan*, pp. 140–145.
- Hikmah, N. and Dewanti, I.D.A.R. (2010) '*Seputar Reaksi Hipersensitivitas (Alergi)*', *Somatognatic (J.K.G Unej)*, 7(2), pp. 108–112.
- Imelda, M. et al. (2007) '*Keseragaman Genetik Bibit Sungkai (Peronema canescens Jack) Hasil Kultur Jaringan*', *Biodiversitas*, 8(1), pp. 54–57.
- Jalal, E.. (2005) '*Eosinofil dan asma*', *Jurnal Kedokteran YARSI*, 13(1), pp. 124–130.
- Kasim, M., H, N.F. and Buchori, R.M. (2020) '*Hubungan Rinosinusitis Kronik Dengan Rinitis Alergi*', *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 11(1), pp. 271–277. Available at: <https://doi.org/10.35816/jiskh.v11i1.266>.

- Latief, M. *et al.* (2021) 'Jurnal Farmasi Sains dan Praktis Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema Canescens* Jack) Pada Mencit Terinduksi Karagenan Anti-Inflammatory Activity Of Sungkai Leaves (*Peronema Canescens* Jack) Ethanol Extract In Carrageenan Induced M', *Jfsp*, 7(2), pp. 2579–4558. Available at: <http://journal.ummgl.ac.id/index.php/pharmacy>.
- Nasution, R. *et al.* (2016) 'Isolation compound anti-obesity from the Bark Ara (*Ficus racemosa*) of Aceh', *Oriental Journal of Chemistry*, 32(5), pp. 2693–2699. Available at: <https://doi.org/10.13005/ojc/320542>.
- Nilasari, A. ofi (2005) *Tinjauan Tentang Tanaman Kersen (Muntingia calabura)*, *NASPA Journal*.
- Ningrum, H., Irawan, E. and Lubis, M.R. (2021) 'Implementasi Metode K-Medoids Clustering Dalam Pengelompokan Data Penyakit Alergi Pada Anak', *Jurasik (Jurnal Riset Sistem Informasi dan Teknik Informatika)*, 6(1), p. 130. Available at: <https://doi.org/10.30645/jurasik.v6i1.277>.
- Ningrum, T., Suprihati, S. and Santosa, Y. (2016) 'Pengaruh Pemberian Ekstrak Kunyit (*Curcuma Longa*) Terhadap Jumlah Eosinofil Di Jaringan Paru Pada Penyakit Alergi: Studi Eksperimental Pada Mencit Balb/C Yang Diinduksi Ovalbumin', *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 5(4), pp. 1824–1833.
- Nurcholis, Suprobowati, E.D.W.O.D. (2018) 'Efektifitas Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa* L.) Terhadap Jumlah Sel Eosinofil Dalam Darah Dan Jaringan Usus Mencit Yang Alergi', pp. 27–28.
- Pawankar, R. *et al.* (2011) *White Book on Allergy*. USA: World Allergy Organization.
- Pradito, S.A., Muthmainah, N. and Biworo, A. (2022) 'Perbandingan Aktivitas Antibakteri Sediaan Infus dan Sediaan Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*', *Homeostasis*, 5(1), p. 135. Available at: <https://doi.org/10.20527/ht.v5i1.5212>.
- Rahmani, R., Sutiya, B. and Abidin, Z. (2022) 'Analisis Beberapa Senyawa Metabolit Sekunder Pada Tumbuhan Sungkai (*Peronema Canescens* Jack), Mali-Mali (*Leea Indica*), Dan Lerak (*Cyathostemma Viridiflorum*) Dari Khdtk Universitas Lambung Mangkurat', *Jurnal Sylva Scienteeae*, 5(4), p. 582. Available at: <https://doi.org/10.20527/jss.v5i4.6147>.
- Rahmayani, I.P., Maskoen, A.M. and Hernowo, B.S. (2013) *Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar*, *Majalah Kedokteran Bandung*. Available

at:<https://doi.org/10.15395/mkb.v45n4.169>.

- Ramadenti, F., Sundaryono, A. and Handayani, D. (2017) '*Uji Fraksi Etil Asetat Daun Peronema canescens terhadap Plasmodium berghei pada Mus musculus*', *Alotrop Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 2(1), pp. 89–92.
- Sari, N. (2022) '*Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sungkai (Peronema Canescens Jack) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Kelinci Putih Jantan (Oryctolagus cuniculus)*', *Braz Dent J.*, 33(1), pp. 1–12.
- Satyaningtijas, A.S. *et al.* (2014) '*Profil leukosit, diferensial leukosit, dan indeks stres luwak jawa (Paradoxurus hermaphroditus)*', *Veteriner*, 15(4), pp. 487–493.
- Setyani, N. (2012) *Jumlah Limfosit pada Mencit yang diberi Konsumsi Ekstrak Alkohol Daun Mimba dan diinduksi Ovalbumin*. Jember: Universitas Jember. Available at: <http://repository.unej.ac.id/handle/123456789/4114>.
- Syahrini, H. (2011) *Inflamasi Eosinofil*. Universitas Sumatera Utara.
- Yunedi, A. (2020) *Uji Toksisitas Akut Fraksi Daun Sungkai (Peronema Canescens Jack.) Serta Penentuan Nilai Ld50 Pada Mencit Putih Jantan, Suparyanto dan Rosad (2015)*. Universitas Andalas Padang.