

**PENGARUH PEMBERIAN *ORALLY DISSOLVING FILM*  
EKSTRAK DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.) TERHADAP  
SEL IMUN TIKUS PUTIH GALUR *W1STAR***

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana  
Farmasi (S.Farm.) di Jurusan Farmasi pada Fakultas MIPA**



**Oleh:**

**TRAH UMMI ALFIYYAH**

**08061281924058**

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**2023**

### HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL

Judul Makalah : Pengaruh Pemberian Orally Dissolving Film Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Terhadap Sel Imun Tikus Putih Galur *Wistar*  
Nama Mahasiswa : Trah Ummi Alfyyah  
NIM : 08061281924058  
Jurusan : Farmasi

Telah dipertahankan di hadapan pembimbing dan pembahas pada seminar hasil di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 22 Mei 2023 serta telah diperbaiki, diperiksa dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 25 Mei 2023

#### Pembimbing

1. apt. Vitri Agustiarini, M.Farm  
NIP. 199308162019032025
2. Dr. Miksusanti, M.Si
3. NIP. 196807231994032003

(.....  
.....  
.....)

#### Pembahas

1. apt. Herlina, M.Kes  
NIP. 197107031998022001
2. apt. Elsa Fitria Apriani, M.Farm  
NIP. 199204142019032031

(.....  
.....)

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Farmasi FMIPA UNSRI

  
Dr. rer.nat. apt. Mardiyanto, M.Si  
NIP. 197103101998022001

## HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Makalah Hasil : Pengaruh Pemberian Orally Dissolving Film Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Terhadap Sel Imun Tikus Putih Galur *Wistar*

Nama Mahasiswa : Trah Ummi Alfiyyah

NIM : 08061281924058


Jurusan : Farmasi

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 19 Juni 2023 serta telah diperbaiki, diperiksa dan disetujui sesuai dengan masukan panitia sidang skripsi.

Inderalaya, 19 Juni 2023

Ketua :

1. apt. Vitri Agustiarini, M.Farm  
NIP. 199308162019032025


(.....)

Anggota :

1. Dr. Miksusanti, M.Si  
NIP. 196807231994032003

(.....)

2. apt. Herlina, M.Kes  
NIP. 197107031998022001

(.....)

3. apt. Elsa Fitria Apriani, M.Farm  
NIP. 199204142019032031

(.....)

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Farmasi  
Fakultas MIPA UNSR1  
  
Dr. ref. nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.  
NIP. 197103101998021002

## HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Trah Ummi Alfiyyah

NIM : 08061281924058

Fakultas/Jurusan : MIPA/Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Inderalaya, 20 Juni 2023

Penulis,



Trah Ummi Alfiyyah

NIM. 08061281924058

**HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK  
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Trah Ummi Alfyyah  
NIM : 08061281924058  
Fakultas/Jurusan : MIPA/Farmasi  
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya "hak bebas royalti non-eksklusif" (*non-exclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul "Pengaruh Pemberian Orally Dissolving Film Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Terhadap Sel Imun Tikus Putih Galur *Wistar*" beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini, Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformat, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Inderalaya, 19 Juni 2023

Penulis



Trah Ummi Alfyyah

NIM. 08061281924058

## HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO



*(Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang)*

*-Skripsi ini saya persembahkan kepada Allah ﷻ, Nabi Muhammad ﷺ,*

*Ibu, Bapak, adik-adik, serta keluarga besar, pembimbing tersayang, dosen, almamater, sahabat serta teman seperjuangan di Farmasi Unsri 2019 dan orang disekeliling saya yang selalu berusaha memberikan semua yang terbaik untuk saya dan selalu menemani dalam kondisi apapun-*

وَسِعَهَا إِلَّا نَفْسًا اللَّهُ يُكَلِّفُ لَا

*“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”*

*(QS. Al-Baqarah: 286)*

يُسِّرًا إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ

*“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan,*

*Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”*

*(QS. Al-Insyirah: 5-6)*

### **Motto:**

***“Jangan takut jatuh, karena yang tidak pernah memanjatlah yang tidak pernah jatuh”***

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas karunia dan rahmat-Nya sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Orally Dissolving Film Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Terhadap Sel Imun Tikus Putih Galur *Wistar*” ini dengan baik. Penyusunan skripsi ini bertujuan sebagai salah satu syarat untuk dapat meraih gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Sriwijaya. Skripsi ini memuat informasi mengenai potensi daun kenikir sebagai imuomodulator.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan selesai bila tidak mendapatkan bantuan dari pihak-pihak terkait. Izinkan saya sebagai penulis pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati untuk mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT karena atas berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian serta penulisan skripsi ini.
2. Dua orang paling berjasa dalam hidup saya, Ibunda Tercinta Ajran Hasanah, S.E., MM. dan Bapak Tercinta Agung Tri Jatmiko, SH. Terima kasih atas kepercayaan yang telah diberikan serta do'a, pengorbanan, cinta kasih, motivasi, semangat, nasihat yang tiada henti diberikan kepada anaknya hingga saat ini. Terima kasih karena tanpa lelah mendukung segala keputusan dan pilihan hidup saya, kalian sangat berarti. Semoga Allah Swt selalu menjaga kalian dalam kebaikan dan kemudahan, *aamiin*.
3. Kepada cinta kasih dua saudari dan saudara tersayang saya, Trah Ummi Afiffah, S.Tr.Stat dan Radhwa Farah Azizah, serta Abang Zaki dan Adek Ilham, terima kasih atas segala do'a, motivasi, dan dukungan yang telah diberikan kepada kakak sulung ini.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. H. Anis Saggaf, MSCE., selaku Rektor Universitas Sriwijaya, Bapak Hermansyah, S.Si., M.Si., PhD., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, dan Bapak Dr. rer. nat Mardiyanto, M.Si., Apt., selaku Ketua Jurusan Farmasi atas sarana dan

prasarana yang telah diberikan kepada penulis sehingga penulisan skripsi ini berjalan dengan lancar.

5. Ibu apt. Vitri Agustiarini, M.Si. selaku pembimbing pertama serta pembimbing akademik dan Ibu Dr. Miksusanti, M.Si. selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu, memberikan ilmu, arahan, saran, serta motivasi dan semangat selama penulis melakukan hingga penyusunan skripsi terselesaikan.
6. Ibu apt. Herlina, M.Kes. dan Ibu apt. Elsa Fitria Apriani, M.Farm. selaku dosen penguji atas kritik dan saran yang telah diberikan untuk kesempurnaan skripsi ini.
7. Kepada semua dosen-dosen Jurusan Farmasi, Bapak Dr. rer. nat Mardiyanto, M.Si., Apt.; Ibu Herlina, M.Kes., Apt.; Ibu Dr. Hj. Budi Untari, M.Si., Apt.; Ibu Fitrya, M.Si., Apt.; Bapak Dr. Shaum Shiyana, M.Sc., Apt.; Ibu Laida Neti Mulyani, M.Si.; Ibu Dina Permata Wijaya, M.Si., Apt.; Bapak Adik Ahmadi, S.Farm., M.Si., Apt.; Ibu Vitri Agustiarini, M.Farm., Apt.; Ibu Elsa Fitria Apriani, M.Farm., Apt.; Ibu Indah Solihah, M.Sc., Apt.; Ibu Viva Starlista, M.Pharm.Sci., Apt.; Ibu Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt.; dan Ibu Annisa Amriani, S. M.Farm, Apt., yang telah memberikan pengetahuan, wawasan, dan bantuan dalam studi selama perkuliahan.
8. Seluruh staf di farmasi UNSRI (Kak Ria dan Kak Erwin) dan seluruh analis di jurusan farmasi UNSRI (Kak Tawan, Kak Isti, dan Kak Fitri) di farmasi UNSRI atas bantuannya selama ini.
9. Keluarga besar penulis yang selalu mendukung memberikan motivasi agar penulis tetap semangat penelitian, revisian dan cepat lulus serta meneruskan kuliah apoteker.
10. Rekan penelitian seperjuangan skripsi (Cece dan Kinan) untuk semua kerjasama dan bantuannya selama ini. Tetap kompak selalu dan sukses selalu. Terima kasih telah berjuang dari awal masa penelitian, seminar hasil, sidang, hingga bisa wisuda bersama, dan tidak ada kata terlambat untuk sebuah gelar. Terima kasih telah hadir dan selalu kebersamaan disaat



tersulit di masa skripsi ini, yang selalu membersamai disaat ada rintangan, yang selalu memberikan semangat untuk selalu mengejar progress di masa-masa akhir, yang selalu mendukung penulis dalam menyelesaikan hal apapun, yang tidak pernah lelah mendengarkan keluh kesah penulis, penulis tidak akan bisa melewati semua rintangan skripsi ini sendiri tanpa bantuanmu, terima kasih.

11. Sahabat penulis yang menemani kehidupan di perantauan (Vina dan Phagy) yang selalu menjaga dan mengingatkan untuk selalu semangat dalam menyelesaikan kuliah walaupun berada jauh dari rumah.
12. SL Team (Wanda, Dilla, Zeza, Naisa) yang telah menemani penulis sejak maba hingga akhirnya mendapatkan gelar S.Farm. Terima kasih sudah bersedia menjadi sahabat, kakak, rekan perkuliahan. Terima kasih untuk terus mendengarkan semua keluh kesah tanpa menyudutkan dan selalu mengarahkan saya ke hal-hal yang baik sejak maba hingga saat ini. Tanpa SL Team masa perkuliahan penulis tidak akan penuh warna.
13. Kakak asuh (Kak Nur Fitriani) dan adik-adik asuh (Brina, Phobbe, Sekar) atas bantuan dan semangatnya.
14. Refianti, Rona, Sella, Dinda, Risda, Ega, Anes terima kasih telah menjadi pendengar semua keluhan penulis serta atas nasihat, hiburan, dan semangatnya agar penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
15. Teman-teman sepermainan seperkuliahan (Kak Syifa, Jerry, Aisyah, Leli, Sabil, Nca, Fariz, Fadhil, Rafii, Kak Edel, Adam, Fima) atas kebersamaannya sepanjang masa perkuliahan.
16. Teman-teman seperjuangan Farmasi angkatan 2019 terutama Farmasi B terima kasih atas kebersamaan dan pengalaman yang telah dilewati selama kurang lebih 4 tahun ini.
17. Kakak-kakak Farmasi 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017 dan 2018 yang telah memberikan arahan serta dukungannya selama perkuliahan dan penelitian. Adik-adik 2020, 2021 dan 2022 yang telah membantu dan mendoakan penulis.

18. Seluruh pihak terkait yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan studi hingga selesai.
19. Diriku sendiri, yang telah mampu bertahan sampai saat ini, yang telah berjuang melawan rasa malas dan berkerja keras untuk menyelesaikan skripsi ini, terima kasih untuk diriku sendiri yang tidak pernah menyerah dan berhenti berjuang.

Akhir kata, penulis menerima semua kritik dan saran dari semua pihak demi kemajuan dan untuk perbaikan agar skripsi ini menjadi lebih baik lagi. Harapan penulis semoga skripsi bisa menambah khasanah pengetahuan bagi pembaca dan dapat berguna dalam memajukan ilmu pengobatan di bidang farmasi.

Inderalaya, 26 Mei 2023  
Penulis,

Trah Ummi Alfiyyah  
NIM. 080611281924058

**EFFECT OF ORALLY DISSOLVING FILM OF KENIKIR LEAF  
EXTRACT (*Cosmos caudatus* Kunth.) AGAINST MALE WHITE RATS  
WISTAR STRAIN**

**Trah Umami Alfiyyah  
08061281924058**

***ABSTRACT***

Kenikir leaves (*Cosmos caudatus*. Kunth) contain various secondary metabolic compounds, quercetin which has the potential as an immunomodulator. This study aims to determine number of leukocytes, lymphocytes, neutrophils, monocytes, CD4 T cells, ODF ethanol extract film of kenikir leaves in Wistar rat strain and macroscopic and histopathologic images of spleen organs. The research used Spektrofotometri UV-Vis, Hematology Analyzer and Pima Analyzer, Hematoxylin Eosin (HE) staining on spleen preparations and male white rats wistar strain weighing 150-250 grams and aged 2-3 months which were divided into 5 groups were divided into five groups. Normal (food), positive control (Stimuno), negative control (*Orally Dissolving Film*), Group I (Kenikir Leaves Extract), and group II (Orally Dissolving Film of Kenikir Leaves Extract). The total flavonoid content was 485.26 mg/gram of extract. Orally Dissolving Film Kenikir leaf extract has a film thickness of 0.09 mm, folding durability of 300, crushing time of 27.42 seconds, pH 4.05, weight uniformity of  $2.313 \pm 0.006$  mg, uniformity of levels with  $99.998\% \pm 0.337$  and percent elongation up to 22.973%. Giving of *Orally Dissolving Film* extract ethanol of kenikir leaves dose 35 mg / kg BB treated group showed a significant ( $p < 0.05$ ) increase in the number of CD4 T cells, leukocytes, lymphocytes, monocytes, and neutrophils.. The ODF kenikir leaves extract treatment group did not show necrosis and bleeding on spleen the same as the positive group. In conclusion, ODF kenikir leaves t extract has immunomodulatory activity as an immunostimulant that is more effective than the kenikir leaves extract.

**Keywords :** *Cosmos caudatus*, *orally dissolving film*, leukocytes, T CD4 cells, spleen

**PENGARUH PMBERIAN *ORALLY DISSOLVING FILM* EKSTRAK DAUN  
KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.) TERHADAP SEL IMUN TIKUS  
PUTIH GALUR *WISTAR***

**Trah Ummi Alfiyyah**

**08061281924058**

**ABSTRAK**

Daun kenikir (*Cosmos caudatus*. Kunth) mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder kuersetin yang berpotensi sebagai imunomodulator. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah leukosit, limfosit, neutrofil, monosit, sel T CD4 ODF ekstrak etanol daun kenikir pada tikus galur *Wistar* dan gambaran makroskopi dan histopatologi organ limpa. Penelitian ini menggunakan Spektrofotometeri UV-Vis, *Hematalogy Analyzer* serta *Pima Analyzer*, Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) pada preparat limpa dan tikus putih jantan galur *wistar* dengan berat 150-250 gram dan berumur 2-3 bulan yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok normal (Pakan), kontrol negatif (*Orally Dissolving Film*), kontrol positif (Stimuno), kelompok I (Pemberian ekstrak etanol daun kenikir dengan dosis 35 mg/kgBB) dan Kelompok II (*Orally Dissolving Film* Ekstrak Daun Kenikir). Berdasarkan hasil penelitian di peroleh kadar total flavonoid sebesar 485,26 mg/gram. *Orally Dissolving Film* Ekstrak daun kenikir memiliki ketebalan film 0,09 mm, daya tahan lipat sebanyak 300, waktu hancur selama 27,42 detik, pH 4,05, keseragaman bobot sebesar  $2,313 \pm 0,006$  mg, keseragaman kadar dengan  $99,998\% \pm 0,337$  dan persen elongasi hingga 22,973%. Pemberian *Orally Dissolving Film* daun kenikir dosis 35 mg/kgBB kenaikan jumlah sel T CD4, leukosit, limfosit, monosit dan neutrofil yang berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ). Pemberian ODF ekstrak daun kenikir tidak menunjukkan adanya nekrosis dan pendarahan pada limpa. Kesimpulan bahwa ODF ekstrak daun kenikir memiliki aktivitas imunomodulator sebagai imunostimulan lebih efektif daripada ekstrak daun kenikir.

**Kata kunci :** *Cosmos caudatus*, *orally dissolving film*, leukosit, Limpa, Sel TCD4

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI</b> .....	iii
.....	iii
<b>HALAMAN PERNYAATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS</b> .....	v
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	xi
<b>ABSTRAK</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Mafaat Penelitian .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Tanaman Daun Kenikir ( <i>Cosmos caudatus</i> ) .....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Daun Kenikir .....	6
2.1.2 Kandungan Kimia Daun Kenikir .....	7
2.1.3 Efek Farmakologi Daun Kenikir .....	8
2.2 Metode Meserasi Dalm Ekstraksi .....	9
2.3 <i>Orally Dissolving Film</i> .....	10
2.4 Sistem Imun .....	10
2.3.1 Sistem Imun Nonspesifik .....	10
2.3.1.1 Pertahanan Fisik .....	11
2.3.1.2 Pertahanan Biokimia .....	11
2.3.1.3 Pertahanan Humoral .....	12
2.3.1.4 Pertahanan Selular .....	13
2.3.2 Sistem Imun Spesifik .....	13
2.3.2.1 Humoral .....	14
2.3.2.2 Selular .....	14
2.5 Immunomodulator .....	15
2.6 Bahan Formulasi ODF .....	15
2.6.1 Bahan Aktif .....	15
2.6.2 Polimer .....	16
2.6.3 Plastisizer .....	17
2.6.4 Zat penstimulasi saliva .....	17
2.6.5 Zat pemanis .....	18
2.7 Metode Pengujian Efek Immunomodulator .....	19

2.7.1 Metode Uji Se Limfosit T CD4+	19
2.7.2 Metode Uji Hitung Jenis Leukosit	20
2.8 Organ Limpa	21
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	<b>23</b>
3.1 Waktu dan Tempat	23
3.2 Alat dan Bahan	23
3.2.1 Alat	23
3.2.2 Bahan	24
3.2.3 Hewan Uji	24
3.3 Prosedur Penelitian	24
3.3.1 Determinasi dan Prearasi Sampel	24
3.3.2 Determinasi Tubuhan	25
3.3.3 Ekstraksi	25
3.3.4 Uji Kuantitatif Penentuan Kandungan Flavonoid Total	25
3.3.4.1 Pembuatan Larutan Induk	25
3.3.4.2 Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum	26
3.3.4.3 Pembuatan Kurva Kalibrasi	26
3.3.4.4 Penentuan Kandungan Flavonoid Total	27
3.3.5 Formulasi <i>Orally Dissolving Film</i>	28
3.3.6 Prosedur Pembuatan	29
3.4 Evaluasi Sediaan	29
3.4.1 Karakteristik Organoleptik Sediaan	29
3.4.2 Ketebalan Film	30
3.4.3 Bobot Film	30
3.4.4 Persen Elogasi	30
3.4.5 Daya Tahn Lipat ( <i>Folding Endurance</i> )	30
3.4.6 Pengukuran pH sediaan	31
3.4.7 Keseragaman Kadar	31
3.4.8 Waktu Hancur	31
3.4.8.1 Pembuatan Larutan pH 6,8	32
3.4.8.2 Pengujian Waktu Hancur	32
3.5 Pengkondisian dan Rancangan Percobaan Hewan Uji	32
3.6 Preparasi Sediaan Uji Suspensi Ekstrak Etanol Daun Kenikir	33
3.7 Preparasi <i>Orally Dissolving Film</i> Individu	34
3.8 Perlakuan Hewan Uji	34
3.9 Evaluasi Total Leukosit, Monosit, Limfosit, dan Neutrofil	34
3.10 Evaluasi Jumlah Sel T CD4 (Cluster of Differentiation)	35
3.11 Euthanasi dan Pembedahan Hewan Uji	35
3.12 Evaluasi Makroskopik Limpa	35
3.13 Evaluasi Mikroskopik Limpa	36
3.14 Analisis Data	37
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	<b>38</b>
4.1 Hasil Identifikasi Daun Kenikir	38
4.2 Hasil Ekstraksi Daun Kenikir	38
4.3 Hasil Pengukuran Kadar Flavonoid Total	39
4.3.1 Hasil Penentuan Kurva Baku	40

4.3.2 Hasil Pengukuran Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kenikir	41
4.4 Hasil Preparasi Sediaan <i>Orally Dissolving Film</i>	42
4.5 Evaluasi Sediaan	44
4.5.1 Evaluasi Karakteristik Organoleptik	45
4.5.2 Evaluasi Ketebalan Film	45
4.5.3 Evaluasi Bobot Film	46
4.5.4 Evaluasi Persen Elongasi	47
4.5.5 Evaluasi Daya Tahan Lipat	48
4.5.6 Evaluasi pH Sediaan	49
4.5.7 Evaluasi Keseragaman Kadar	50
4.5.8 Evaluasi Waktu Hancur	51
4.6 Pemberian Sediaan dan Perlakuan Hewan Uji	52
4.7 Euthanasia dan Pemeriksaan Parameter Imunitas Tubuh	52
4.7.1 Evaluasi Bobot Tikus	53
4.7.2 Evaluasi Total Leukosit, Limfosit, Monosit dan Neutrofil	55
4.7.3 Evaluasi Jumlah sel T CD4	64
4.7.4 Hasil Pengamatan Makroskopik Limpa	67
4.7.5 Hasil Pengamatan Histipatologi Limpa	69
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	73
5.1 Kesimpulan	73
5.2 Saran	74
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	75
<b>LAMPIRAN</b>	85
<b>DAFTAR RIWAYAT HIDUP</b>	146

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi Tanaman (a) <i>Cosmos caudatus</i> . Kunth. (Umi, 2018) (b) Daun <i>Cosmos caudatus</i> . Kunth. (Alfiyyah, 2023). .....	7
Gambar 2. Grafik kurva baku kuersentin.....	41
Gambar 3. Perbandingan ODF Ekstral Daun Kenikir (a) ODF Ekstrak Daun Kenikir (b) ODF Ekstrak Daun Kenikir Sebelumnya .....	44
Gambar 4. Diagram perbandingan jumlah sel leukosit.....	55
Gambar 5. Diagram perbandingan jumlah sel limfosit .....	57
Gambar 6. Diagram perbandingan jumlah monosit .....	59
Gambar 7. Diagram perbandingan jumlah sel neutrofil.....	60
Gambar 8. Hasil Pengukuran Jumlah Sel T CD4.....	64
Gambar 9. Hasil Pengamatan Histopatologi Limpa. (a) Kelompok normal (b) kelompok negative (c) kelompok positif (d) kelompok 1 (e) kelompok 2 .....	70



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Formula Orally Dissolving Film Ekstrak Daun Kenikir (Nasution, 2018)	28
Tabel 2. Kelompok Hewan Uji .....	32
Tabel 3. Hasil pengukuran absorbansi kuersetin pada panjang gelombang maksimum 432 nm.....	40
Tabel 4. Hasil Evaluasi Orally Dissolving Film Ekstrak Daun Kenikir .....	44
Tabel 5. Hasil pengukuran bobot tikus .....	53
Tabel 6. Hasil Pengukuran Total Leukosit, Limfosit, Monosit, dan Neutrofil ...	55
Tabel 7. Hasil Pengukuran Jumlah sel T CD4 .....	64
Tabel 8. Hasil pengamatan patologi anatomi organ limpa.....	66
Tabel 9. Data Hasil Evaluasi Mikroskopis Limpa .....	69

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Preparasi Ekstrak Etanol Daun Kenikir ( <i>Cosmos caudatus</i> . Kunth) .....	85
Lampiran 2 Skema Kerja Umum .....	86
Lampiran 3 Penentuan Kandungan Flavonoid Total .....	87
Lampiran 4 Evaluasi Total Leukosit, Monosit, Limfosit, dan Neutrofil .....	88
Lampiran 5 Evaluasi Jumlah Sel T CD <sub>4</sub> .....	89
Lampiran 6 Evaluasi Makroskopis Limpa .....	90
Lampiran 7 Perhitungan Presentase Rendaman Ekstrak .....	91
Lampiran 8 Perhitungan Jumlah Hewan Uji pada Tiap Kelompok .....	92
Lampiran 9 Konversi Dosis dan Perhitungan Dosis Pemberian Sediaan .....	93
Lampiran 10 Hasil Determinasi Daun Kenikir .....	96
Lampiran 11 Penentuan Kandungan Flavonoid Total .....	97
Lampiran 12 Penentuan Kadar Flavanoid Total Ekstrak .....	99
Lampiran 13 Dokumentasi Pembuatan Sediaan .....	100
Lampiran 14 Dokumentasi Evaluasi Pengujian Sediaan .....	103
Lampiran 15 Data Hasil Evaluasi Pengujian Sediaan .....	105
Lampiran 16 Sertifikat Kode Etik .....	108
Lampiran 17 Sertifikat Hewan Uji .....	109
Lampiran 18 Dokumentasi Perlakuan Hewan Uji .....	110
Lampiran 19 Dokumentasi Evaluasi Imun Hewan Uji .....	111
Lampiran 20 Data Hasil Parameter Imunitas .....	109
Lampiran 21 Uji Statistik Jumlah Sel Leukosit .....	116
Lampiran 22 Uji Statistik Jumlah Sel Limfosit .....	117
Lampiran 23 Uji Statistik Jumlah Sel Monosit .....	118
Lampiran 24 Uji Statistik Jumlah Sel Neutrofil .....	119
Lampiran 25 Uji Statistik Bobot Limpa Tikus .....	120
Lampiran 26 Dokumentasi Penelitian .....	121

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Sistem imun diperlukan untuk mempertahankan keutuhan tubuh sebagai perlindungan terhadap bahaya yang ditimbulkan berbagai benda asing atau antigen (Baratawidjaja, 2014). Sistem imun adalah gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi. Senyawa yang berperan terhadap peningkatan sistem imun tubuh disebut imunomodulator (Baratawidjaja, 2014). Tujuan utama sistem imun adalah untuk mempertahankan tubuh dari serangan mikroorganisme (Morton, 2005).

Sistem pertahanan tubuh yang bertujuan untuk keutuhan tubuh terdiri atas sistem imun non spesifik (*natural/innate*) dan spesifik (*adaptive/acquired*) (Joyce, 2008). Sistem imun non spesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme sehingga dapat memberikan respon secara langsung salah satunya makrofag (Baratawidjaja, 2002). Sistem imun spesifik atau disebut juga *adaptive immunity* mempunyai karakteristik mampu mengenal benda asing bagi dirinya (Reni Yunis, dkk. 2022).

Imunomodulator merupakan senyawa yang dapat mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu (Suhirman, 2013). Imunomodulator membantu tubuh untuk mengoptimalkan fungsi sistem imun yang berperan utama dalam mempertahankan tubuh dengan cara menstimulasi (imunostimulan) atau menekan reaksi imun yang abnormal (imunosupresan)

(Suhirman, 2013). Agen imunomodulator digunakan untuk menekan atau merangsang respon kekebalan tubuh dari suatu organisme terhadap antigen.

Senyawa yang dapat memodulasi sistem imun salah satunya dapat diperoleh dari tanaman (Wagner *et al.*, 1999). Tanaman yang bersifat imunomodulator pada umumnya memiliki aktivitas memacu imunitas spesifik dan non spesifik (Eze *et al.*, 2014). Tanaman yang bersifat immunomodulator tersebut memicu imunitas humoral seperti proliferasi leukosit dan seluler seperti sel T CD4 (Bafna and Misra, 2004). Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai imunomodulator yaitu daun kenikir (Andarwulan dkk., 2010).

Daun kenikir mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, flavon dan flavanon, polifenol, saponin, tanin, alkaloid dan minyak astiri (Andarwulan dkk., 2010). Kandungan flavonoid yang terdapat dalam daun kenikir seperti myricetin, kuersetin, kaempferol, luteolin dan apigeninefek (Andarwulan dkk., 2010). Daun kenikir diidentifikasi sebagai sumber sayuran yang memiliki potensi kaya flavonoid dan antioksidan (Andarwulan dkk., 2010). Quercetin adalah flavonoid yang paling dominan senyawa dalam daun *Cosmos caudatus* Kunth (51%) (Andarwulan, 2010).

Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan senyawa yang dapat digunakan sebagai imunostimulator (Munawaroh, 2006). Senyawa fenolik yang terkandung dalam ekstrak etanolik daun kenikir bersifat imunostimulator dengan meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag pada mencit jantan (Munawaroh, 2006).

Menurut penelitian yang telah dilakukan, pemberian ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus*) dapat meningkatkan imunitas tubuh (Agustina, 2019). Pemberian ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus*) dosis 50 mg/Kg b/b dapat menurunkan jumlah sel T CD4<sup>+</sup> pada mencit yang terindikasi kanker payudara (Kumar et al., 2011). Tanaman daun kenikir adalah tanaman yang biasa dikonsumsi langsung oleh masyarakat dan memiliki rasa yang kurang manis serta bersifat dingin dan dikonsumsi sebagai lalapan sehingga membuat daun kenikir banyak disukai tetapi belum menimbulkan *effect* secara cepat dari khasiat daun kenikir tersebut. Salah satu upaya yang dapat dilakukan dengan dibuat menjadi sediaan *orally dissolving film* (ODF) (Ren dkk., 2003). Bahan aktif yang memiliki rasa agak manis dengan dijadikan sebagai ODF membuat rasa yang kurang manis dapat ditutupi dengan penggunaan film serta dapat ditambahkan beberapa eksipien dengan rasa yang disukai (Koland et al., 2010; Fajria dan Nurwarda, 2018).

Tanaman obat tradisional memiliki kelarutan yang rendah dalam lemak serta daya permeabilitas kurang mampu menembus barrier absorpsi, sehingga memengaruhi bioavailabilitas senyawa bahan alam tersebut di dalam tubuh. Teknologi orally dissolving film (ODF) dapat digunakan sebagai alternatif untuk peningkatan permeabilitas. *Orally dissolving film* (ODF) merupakan sistem penghantaran berbentuk strip oral yang sangat tipis yang mana dapat dengan mudah ditempatkan di dalam lidah pasien atau di jaringan manapun dalam mukosa oral, yang akan cepat larut dan hancur tanpa memerlukan air (Jyoti A et al., 2011). Selain itu, sistem orally dissolving film memberikan kenyamanan pada pasien pediatric, geriatric, pasien yang sulit menelan, serta meningkatkan

bioavailabilitas zat aktif (Zhang, H et al., 2002).Pengembangan dari ODF yang mengandung ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) memberikan sebuah alternatif sebagai mengurangi rasa pahit yang dihasilkan oleh ekstrak dan dapat disukai oleh anak-anak. Diharapkan film cepat hancur mempunyai sifat mekanik yang kuat dan lentur, namun tetap dapat terdisintegrasi dengan cepat (Mohamed, 2011).

Menurut penelitian yang telah dilakukan Umi (2018), formula *Orally Dissolving Film* optimum menggunakan HPMC dan PEG 400 terdapat pada konsentrasi HPMC 300 mg dan PEG 400 150 mg. Formula optimum menghasilkan waktu hancur 34 detik, persen pemanjangan 42.212 %, daya tahan lipat sebesar 428, dan ketebalan film 0,1433. Hasil evaluasinya menunjukkan keseragaman bobot sebesar  $25,73 \pm 0.6501$  mg, pH  $6,83 \pm 0.0103$ . Berdasarkan uraian diatas, maka penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh efek imunomodulator pada daun kenikir yang dibuat menjadi sediaan *orally dissolving film* (ODF) terhadap sel imun tikus *wistar* putih (*Rattus norvegicus*) sebelum dan sesudah diberikannya ODF.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas. Dapat beberapa rumusan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana sifat *Orally Dissolving Film* (ODF) ekstrak daun kenikir?
2. Bagaimana pengaruh pemberian *Orally Dissolving Film* (ODF) Ekstrak Daun Kenikir terhadap parameter sel imun Sel T CD4 tikus putih galur *wistar*?

3. Bagaimana pengaruh pemberian *Orally Dissolving Film* (ODF) ekstrak daun kenikir terhadap gambaran makroskopi dan histopatologi tikus putih galur *wistar*?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Menentukan sifat *Orally Dissolving Film* ekstrak daun kenikir
2. Menentukan pengaruh larutan *Orally Dissolving Film* ekstrak daun kenikir pada sel imun tikus putih galur *wistar*
3. Menentukan gambaran makroskopi dan histopatologi tikus putih galus *wistar Orally Dissolving Film* (ODF) ekstrak daun kenikir pada tikus putih galur *wistar*

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi kepada masyarakat mengenai aktivitas imunomodulator ekstrak daun kenikir dalam bentuk sediaan *Orally Dissolving Film* dan hasil penelitian diharapkan dapat memberikan nilai ilmiah dari potensi daun kenikir dan dijadikan dasar penelitian selanjutnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abas, F. dkk. 2003, Antioxidative and radical scavenging properties of the constituents isolated from *Cosmos caudatus* Kunth, *Nat. Prod. Sci*, 9. 245–248.
- Abbas, A. K. and Lichtman, A. H. 2004, *System, Basic Immunology: Function and Disorders of the Immue*, Second Edi, Philadelphia.
- Aboderin, F. I., and Oyetayo, V, O. 2006, Hematological studies of rats fed different doses of probiotic, *Lactobacillus plantarum*, Isolated from fermenting corn slurry, Pakistan *J. Nutr*, 5:102-105.
- Arrahaman, Yovia. 2016, *Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Afrika (Vernonia Amygdalina) Terhadap Jumlah Sel T CD4 dan Leukosit pada Tikus Putih Terinduksi Salmonella thypimurium*, Skripsi Jurusan Farmasi FMIPA, Universitas Sriwijaya, Indralaya.
- Aminu, NR et al. 2020, Potensi kenikir (*Cosmos caudatus*) sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti* instar IV, *Jurnal Biologi Tropis*, 20 (1): 16 – 21
- Amrianto, Mukarramah, Dandari, D.S., Nahda, N.A., dan Dian, A.P. (2017). Formulasi Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) dalam Bentuk Sediaan Transdermal Liposome Cream. *Prosiding Seminar Nasional Biology for Life Gowa*. Makassar.
- Amjad, M., Ehteshamuddin, M., Chand. S, Hanifa, Sabreesh, M., Asia, R., dan Kumar, G.S. 2011. Formulation and Evaluation of Transdermal Patches of Atenolol, *IJPRAS*, 1(2): 109-119.
- Anantia Rifqiani, Desnita Rise, Luliana Sri. 2020, Pengaruh Penggunaan PEG 400 dan Gliserol Sebagai Plasticizier Terhadap Sifar Fisik Sediaan *Patch* Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica*), *J Pharm Sci*, 2(4):1-10
- Andarwulan N, Kurniasih D, Apriady RA, Rahmat H, Rotoc AV, Bolling BW. 2012, Polyphenols, carotenoids, and ascorbic acid in underutilized medicinal vegetables, *J Funct Food*, 2;4:339-47
- Asep E. Sukmayadi. 2014, Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn.), *IJPST*, 1(2): 65-72
- Asija, R., Manmohan, S., Avinash, G., and Shailendra, B. 2013, Orodispersible Film: A Novel Approach for Patient Compliance, *International Journal of Medicine and Pharmaceutical Research*, 1(4): 386-390.
- Bafna, A.R. & Mishra, S.H. 2004, Immunomodulatory Activity of Methanol Extract of Flower Heads of *Sphaeranthus Indicus* Linn, *Ars Pharmaceutica*, 45:281–91.
- Bala, R., Pawar, P., dan Khanna, S. 2013, Orally Dissolving Strips: A New Approach to Oral Drug Delivery System, *Int. J. Pharm Investig*, 2(2): 67-73.



- Balakrishna, T., Vidyadhara, S., Murthy, T., Ramu, A., dan Sasidhar, R.L.C. 2018, Formulation and Evaluation of Esomeprazole Fast Dissolving Buccal Films, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(10): 193-199.
- Baratawidjaja, Kamen Gama. 2002, *Imunologi Dasar*, FK UI, Jakarta.
- Baratawidjaja, K. G. and Rengganis, I. 2009, *Imunologi Dasar Edisi ke-sebelas*, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Baroroh, F., Aznam, N., Susanti, H. 2011, Uji Efek Antihiperlikemik Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia augusta*, Merr) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar, *Pharmaciana edisi mei 2011*, 1(1) : 43-53. Bawane, S., Telrandhe, R., dan Pande, S.D. 2018, Formulation and Evaluation of Oral Fast Dissolving Film of Bisoprolol fumarate, *IJPDA*, 6(2): 75-82.
- Bhyan, B., Jangra, S., and Kaur, M. 2011, Orally fast dissolving films: Innovations in formulation and technology, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 9(2): 50-57.
- Boderin, F.I. and V.O. Oyetayo. 2006, Haematological studies of rats fed different doses of probiotic, *Lactobacillus plantarum*, isolated from fermenting corn slurry, *Pakistan J. Nutr*, 5:102-105.
- Bonnevier, J., Hammerbeck, C., dan Goetz, C. 2018, *Flow Cytometry Basics for the Non-Expert*, Springer Nature Switzerland AG, Cham, Switzerland.
- Brendolan A, Rosado MM, Carsetti R, Selleri L, Dear TN. 2007, Development and Function of the Mamalian Spleen, *Bio Essays*, 29: 166-177.
- Budiawan, I.G.O., Suwiti, N.K., Suastika, I.P., & Besung, I. N. K. 2013, Pengaruh Pemberian Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap Gambaran Mikroskopis Limpa Mencit yang Diinfeksi *Salmonella typhi*. *Buletin Veteriner Udayana*, 5(1):15-21.
- Carmelita AB. 2016, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr) Secara Oral pada Mencit Balb-C Terhadap Pencegahan Penurunan Diameter Germinal Center pada Kelenjar Getah Bening Serta Kadar IgM Serum, *J Biosains Pascasarjana*, 18(1).
- Castro et al. 2008, *J. Dairy Sci*, 91 (10): 3947-3957.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., Chen, J. C. 2002, Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *J Food Drug Ana*, 10(1) : 178-182
- Chauhan, I., Yasir, M., dan Nagar, P. 2012, Insight into polymers: Film Formers in Mouth Dissolving Films, *Drug Invent*, 2(3): 56-73.
- Chotiah, S., Trisharyanti, I., Munawaroh, R. 2015, Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*. (L) H.B.K) sebagai Antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus epidermidis*, *Naskah Publikasi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, 1-7.

- DARLINA. 2015, Respon Sitokin Pada Kultur Sel Limfosit Sebagai Uji Penting Dalam Pengembangan Vaksin Malaria Iridasi, *Buletin Alara*, Vol 17 (1) : 1-7
- Deepthi, P.R. & Kumar, K.S. 2016, Formulation and evaluation of amlodipine besylate oral thin films, *IJPSR*, 7(1):199-205.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Ditjen POM, Jakarta, Indonesia.
- Depkes RI. 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Dirjen POM, Direktorat Pengawasan Obat tradisional. Jakarta: Halaman 14-41.
- Desu, P., Brahmaiah, B., dan Nagalakshmi, A. 2013. An Overview on Rapid Dissolving Films. *Asian J. Pharm.* 3(1): 15
- Dewi, A.C., Ali, M. & Purnomo, H. 2015, Efek ekstrak propolis terhadap ekspresi TNF- $\alpha$ , apoptosis dan nekrosis jaringan otak tikus model traumatic brain injury (TBI). *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 29(2):117-124.
- Dewi LK, Widyanarti S, Rifai M. 2013, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol *Annona muricata* Linn Terhadap Peningkatan Jumlah Sel CD4+ dan CD8+ pada Timus Mencit (*Mus musculus*), *Biotropika*, 2(5): 269-272.
- Djamil R, Anelia T. 2009, Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol beberapa Spesies *Papilionaceae*, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 7(2): 6
- Douglas JW, Wardrop KJ. 2010, *Schalm's Veterinary Hematology. 6th ed*, Wiley-Blackwell
- Endra, Pudjiastuti. 2018, Efektivitas Ekstrak Etanol Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Putih Galur Wistar Yang Diinduksi Aloksan, *Cendekia Journal of Pharmacy*, Vol. 2, No. 1.
- Eze, C.P., Vincent, S.O., Shoyinka, J.O.A., Okoye, W.s., Ezema, I.O., Ogbonna, D.C. & Okwor, O.K.I. 2014, Comparison of the Serum Proteins and Immune Responses of Velogenic Newcastle Disease Virus Infected Chickens and Ducks, *Open Journal of Veterinary Medicine*, 4:122-128
- Fitrya., Annisa Amriani, Rennie Puspa Novitam Elfita, Dewi Setiorini. 2020, Immunomodulatory effect of *Parkia speciosa* Hassk. pods extract on rat induced by *Salmonella typhimurium*, *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 8 (5), 457-465.
- Franson RD, Wilke WL, Fails AD. 2009, *Anatomy and Physiology of Farm Animal 7th ed*, Iowa State University Press, Wiley-Blackwell.
- Fry, M. E, Mc Gavin, M., D. 2007, Bone Marrow, blood cells, and lymphatic system. Dalam: McGavin MD, Zachary JF, (Eds). *Pathologic Basis of Veterinary Disease 4 th*

- Edition. Missouri: Mosby ElsevierGalgatte, U. C., Khanchandani, S. S., Jandhav, Y. G., and Chaundhari, P. D. 2013, Investigation Film Different Polymers, Plasticizers and Superdisintegrating Agents Alone and In Combination For Use in The Formulation of Fast Dissolving Oral Films, *International Journal of PharmTech Research*, 5(4): 1465-1472.
- Ganesh, R.K., dan Moreshwar, P.P. 2014, Design and In Vitro Evaluation of Mouth Dissolving Film Containing Amlodipine Besylate, *WJPPS*, 3(10):925-945.
- Ginting, D. 2014, "Formulasi patch natrium diklofenak berbasis polimer hidroksi propil metil selulosa (HPMC) dan natrium karboksi metil selulosa (NaCMC) sebagai antiinflamasi lokal pada penyakit periodontal", *Skripsi*, S. Farm, FKIK, Farmasi, Universitas UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta, Indonesia
- Guyton AC dan Hall EJ. 2000, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.ed ke-9*, EGC, Jakarta. Indonesia..
- Hanadhita D, Prawira YA, Rahma A, Setyaningtijas SA, Agungpriono S. 2018, Morfometri Limpa Berkaitan dengan Produksi Radikal Bebas dan Antioksidan pada Kelelawar Pemakan Buah Codot Kawar (*Cunopterus brachyoni*), *Jurnal Veteriner*, 19(1): 62-70.
- Haeria, H., dan Andi, T. U. 2016, Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.), *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Science*, (1), 57-61.
- Handajani, N.S., Dharmawan, R. 2009, Pengaruh VOC Terhadap Hitung Jenis Leukosit, Kadar Glukosa dan Kreatinin Darah *Mus musculus* Balbc Hiperglikemi dan Tersensi Ovabumin, *Jurnal Bioteknologi*, 6(1): 1-10.
- Harborne, J.B. 1987, *Metode Fitokimia*, terbitan ke-2, diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Padmawinata, K., Penerbit ITB, Bandung, Indonesia
- Hidayati, E., Berata, I. K., Samsuri., Sudimartini., Merdana, I. M., Sudimartini, L.M. 2018, Gambaran histopatologi limpa tikus putih yang diberi deksametason dan vitamin E, *Buletin Veteriner Udayana*, 10(1) : 18-25.
- Husinsyah, M. 2022. *Optimasi Sediaan Orally Dissolving Film (ODF) Ekstrak Buah Mengkudu (Morinda Citrifolia L.) Dengan Variasi Pullulan dan Propilen Glikol Menggunakan Metode Desain Faktorial*. Skripsi Jurusan Farmasi FMIPA, Universitas Sriwijaya, Indralaya.
- Isnindar, I. 2014, Aktivitas Antioksidan Daun Bawang Mekah (*Eleutherine americana* Merr.) Dengan Metode DPPH (2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil), *AsSyifaa Jurnal Farmasi*, 6(1) : 73-81
- J. Jose, S. Sudhakaran, T. M. Sumesh Kumar, S. Jayaraman, and E. Jayadevi Variyar. 2014, Study of in vitro immunomodulatory effect of flavonoid isolated from *Phyllanthus niruri* on human blood lymphocytes and evaluation of its antioxidant potential, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, vol. 6, no. 2, pp. 284–289.

- Jyoti A, Gurpreet S, Seema S, Rana A.C. (2011), Fast Dissolving Films: A Novel Approach To Oral Drug Delivery, *IRJP*, 1 2(12): 69-74.
- Kalyan, S., and Bansal, M. 2012, Recent Trends in The Development of Oral Dissolving Film, *International Journal of PharmTech research*, 4(2): 725-733.
- Karimy, M.F., Julendra, H., Hayati, S.N., Sofyan, A., Damayanti, E., Priowidodo, D. 2013, Efektifitas Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*), Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan Tepung Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) dalam Sediaan Granul Larut Air sebagai Koksidiostat Alami, *JITV*, 18 (2): 88-98.
- Kaul, M., Verma, S., Rawat, A. & Saini, S. 2011, An overview on buccal drug delivery system, *IJPSR*, 2(6):1303-1321.
- Klimov, V. V. 2019, *From Basic to Clinical Immunology*, Spriger nature Switzerland, Switzerland.
- Krisna, D.D.A, 2011, Pengaruh regelatinasi dan modifikasi hidrotermal terhadap sifat fisik pada pembuatan edible film dari pati kacang merah (*Vigna angularis* sp.), *Tesis*, M.T, Teknik Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia
- Lin, J. Y., & Tang, C. Y. 2007, Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food chemistry*, 101(1):40- 147.
- Marques, M.R.C., Loebenberg, R., dan Almukainzi, M. 2011, Simulated biological fluids with possible application in dissolution testing, *Dissolution Technologies*, 1:15- 28.
- Marshall, J.S., Warrington, R., Watson, W., Kim, H.L.. 2018, An Introduction to Immunology and Immunopathology, Allergy, Asthma Clin. *Immunol*, 14, 1– 10.
- Mediani, A., Abbas, F., Khatib, A., dan Tan, C. P. 2013, Cosmos caudatus as a potential source of polyphenolic compounds: optimisation of oven drying conditions and characterization of its functional properties, *Molecules* 18(9):10452- 10464.
- Meliana N. 2016, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleuthrine palmifolia* L) Secara Oral Pada Mencit BALB/c Terhadap Pencegahan Penurunan Jumlah NK Sel dan CD 8+, *J Biosains Pascasarjana*, 18(1): 13-23
- Mescher AL. 2012. *Histologi Dasar Junquiera Teks & Atlas*. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Hlm. 221-239.
- Middleton E jr, Kandaswami C, Theoharides TC. 2000, The effect of plant flavonoid on mammalian cells: implication for inflammantion, heart disease, and cancer, *Pharmacol Review*, 2:673-751.
- Mohamed, M., Haider, M., and Ali, M. 2011, Buccal mucoadhesive films containing antihypertensive drug: in vitro/in vivo evaluation, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(6): 665-686.
- Mohanty, S. K. and Leela, K. S. 2014, *Textbook of Immunology*, Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd, London.

- Morse, E.E., Nashed, A., dan Spilove, L. 1989, Automated Differential Leukocyte Counts, *Ann Clin Sci*, 19(3): 155-160.
- Murphy, K.M. 2012, *Janeways Immunobiology 8th Ed*, Garland Science, United States.
- N. D. Yuliana, A. S. Arifin, and M. Rafi. 2020, Multiple spectroscopic fingerprinting platforms for rapid characterization of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors and antioxidants from some commonly consumed Indonesian vegetables and spices, *Journal of Food Measurement and Characterization*, vol. 14, no. 3, pp. 1–9.
- Nagendrakumar, D., Keshavshetti, G.G., Mogale, P., Swami, S. & Swami, H. 2015, Formulation and evaluation of fast dissolving oral films of metoprolol succinate, *IJEAS*, 6(4): 28-38.
- Nasution, Umi Khairani. 2018. *Optimasi Formulasi dan Evaluasi Sediaan Orally Dissolving Film (ODF) Ekstrak Daun Kenikir (Cosmos caudatus Kunth.) Sebagai Penyegar Mulut*. Skripsi Jurusan Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Nair AB, Kumria R, Harsha S (2013). In vitro techniques to evaluate buccal films. *J Control Release* 166:10–21
- Nalluri, B. N., Sravani, B., Maheshwari, K. M., Saisri Anusha, V., dan Brahmini, S. R. 2013, Development and evaluation of mouth dissolving films of salbutamol sulfate, *J Chem Pharm Res*, 5(3): 53-60.
- Ohashi, K., Winarno, H., Mukai, M., Inoue, M. & Prana, M.S, 2003. Cancer Cell Invasion Inhibitory Effects of Chemical Constituents In The Parasitic Plant *Scurrula atropurpurea* (Loranthaceae), *Chem. Pharm. Bull.*, 51: 343-345.
- Palupi, D.H.S., Retnoningrum, D.S., Iwo, M.I., Soemardji, A.A. 2020, Leaf Extract Of *Artocarpus altilis* [Park] Fosberg Has Potency As Antiinflammatory, Antioxidant, And Immunosuppressant, *Rasayan Journal Chemistry*, 13(1) : 636- 646.
- Pancawati, Ariani. 2015, Profil Leukosit Tikus Putih yang Diberi Air Seduhan Kelopak Bunga Rosela Merah (*Hibiscus sabdariffa*), *Jurnal Kesehatan Prima*, 9(20): 1534-1545.
- Parker, G. A. (Ed.). 2017, *Immunopathology in toxicology and drug development*, Humana Press.
- Patil, S., Paresh, R., dan Mahaparale. 2012, Fast Dissolving Oral Films: An Innovative Drug Delivery System, *International Journal of Research and Reviews in Pharmacy and Applied Science*, 2(3): 482-496.
- Pebriana, R.B., Bantari, W.K.W., Widayanti, E., Wijayanti, N.L.S., Wijayanti, T.R., Riyanto, S., Meiyanto, E. 2008, Pengaruh Ekstrak Metalonik Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap Pemacuan Apoptosis Sel Kanker Payudara, *Pharmacon*, 9(1):2.
- Permatasari, F., Mardianto, M., & Fithri, N. A. (2017). *Formulasi fast dissolving film amlodipin besilat serta optimasi komposisi HPMC-E5 dan maltodekstrin dengan desain faktorial* (Doctoral dissertation, Sriwijaya University)

- Peters B, Schneider-Stock R, Boltze C, Jager V, Epplwn J, Landt O, Rys J, 7 Roessner A. 2003, Elevated telomerase activity, c-MYC and hTERT mRNA expression: Association with tumour progression in malignant liomatous tumours, *Journall Pathology*, 199:517-525
- Puspitasari, D.A., Pratiwi, T. Murwani, S. 2012, Efek Imunostimulator Ekstrak Etanol Kayu Manis (*Cinnamomum Burmanii*) Terhadap Jumlah CD4, dan Interferon Gamma Pada Mencit BALB/c yang Diinfeksi Bakteri *Salmonella enteritidis*, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia.
- Putri, Bella Jannati. 2021, Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Pada Tikus Putih Jantan Galur *Wistar* Diinduksi *Salmonella thypimurium*, Skripsi Jurusan Farmasi FMIPA, Universitas Sriwijaya, Indralaya.
- Qinghu, W., Jinmei, J., Nayintai, D., Narenchaoketu, H., Jingjing, H., Baiyinmuqier, B. 2016, AntiInflammatory Effects, Nuclear Magnetic Resonance Identification And HighPerformance Liquid Chromatography Isolation Of The Total flavonoids From *Artemisia Frigida*, *Journal Of Food And Drug Analysis*, 24:385- 391.
- Qudsiani K. 2017, Formulasi dan Optimasi Komposisi HPMC-E5 dan Maltodekstrin Sebagai Fast Dissolving Film Salbutamol Sulfat dengan Desain Faktorial, Skripsi, Palembang: Universitas Sriwijaya, Indonesia.
- Rajat, P., Ravi, S., Pravin, S., dan Gajanan, D. 2019, A Review on Mouth Dissolving Film, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(6): 206-210.
- Reni Yunus., Ratih Feraritra., Haerani Harun. 2022, *Imunohematologi dan Bank Darah*, PT Global Eksekutif Teknologi, Sumatera Barat.
- Riswanto. 2013, *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi*, Alfamedia dan Kanal Medika, Yogyakarta, Indonesia.
- Robinson, T. 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh Kosasih, Institut Teknologi Bandung, Bandung, Indonesia
- Rousdy DW, Rahmawati, Kurniatuhadi R, Kuniadi E. 2017, Mikroanatomi Limpa Tikus (*Rattus norvegicus L.*) Setelah Pemberian Asam Humat Dari Tanah Gambut Kalimantan, *J Penelitian dan Pengembangan Borneo Akcaya*, 4(1): 57-62.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E. 2003, *Handbook Of Pharmaceutical Excipient Sixth Edition*, Pharmaceutical Press, USA
- Sardjono, W. 2009, *Strategi Penanggulangan dan Pencegahan Penyakit Parasitik di Masyarakat*, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia.
- Sari K. 2007, Pengaruh Komposisi Polimer Hidroksi Propil Selulosa (HPMC) K15 dan Etil Selulosa (EC) N22 Terhadap Pelepasan Piroksikam dari Basis Sediaan *Patch*, Skripsi, Universitas Airlangga, Indonesia.
- Septianto, R.D., Ardana, I.B.K., Sudira, I.W., Dharmayudha, A.A.G.O. 2015, Profil Hematologi Mencit Pasca Pemberian Jamu Temulawak Secara Oral, *Buletin Veteriner Udayana*, 7(1): 34-40.
- Sembiring, B. B., Ma'mun, M. M., dan Ginting, E. I. 2006, Pengaruh Kehalusan Bahan dan Lama Ekstraksi Terhadap Mutu Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*). *Bul. Littro*, 17 : 53-58.

- Shaikh, M.T.M., Atul, A.G., Kiskor, S.S. & Chaudhari, S.R. 2013, Formulation development & evaluation of fast dissolving oral film of amlodipine besylate by solvent casting technique, *IJUPBS*, 2(3): 534-544.
- Sharifuldin. 2014, Profiling and Quantification of *Cosmos caudatus* Kunth and *Centella Asiatica* Linn. And In Vitro Anti Cancer Activity of *Cosmos caudatus* . Thesis. 7-11.
- Sharma, A., Fish, B.L., Moulder, J.E., Medhora, M., Baker, J.E., Mader, M., dan Cohen, E.P. 2014, Safety and Blood Sample Volume and Quality of a Refined Retro-Orbital Bleeding Technique In Rats Using a Lateral Approach, *Lab Animal*, 43(2): 63-66.
- Sharma, R., Parikh, R. K., Gohel, M. C., dan Soniwala, M. M. 2007, Development of taste masked film of valdecoxib for oral use, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 69(2), 320.
- Sherwood L. 2016, *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem*, Jakarta. EGC. Hlm. 443-479.
- Shirsand, S. B., Suresh, S., Keshavshetti, G. G., Swamy, P. V., & Reddy, P. V. P. (2012). Formulation and optimization of mucoadhesive bilayer buccal tablets of atenolol using simplex design method. *International journal of pharmaceutical investigation*, 2(1), 34.
- Shui G, Leong LP, Wong SP. 2005, Rapid screening and characterisation of antioxidants of *Cosmos caudatus* using liquid chromatography coupled with mass spectrometry, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 827:127-38.
- Sogandi, S., dan Nilasari, P. 2019, Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Potensinya sebagai Inhibitor Karies Gigi, *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 22(5): 73–81.
- Stewart, G. 2004, *The Immune System*, Chelsea House, New York
- Subowo. 2013, *Imunologi Klinik Edisi ke-2*, Sagung Seto, Bandung
- Suhirman, S., Winarti, C. 2013, Prospek dan Fungsi Tanaman Obat sebagai Imunomodulator, *Jurnal Penelitian Sains Dan Teknologi*, 4(2) : 1-8.
- Sujono, T. A., Kusumowati, I. T. D., & Munawaroh, R. 2006, Effects of Jamaican cherry (*Muntingia calabura* L.) Fruits Extract on Immunoglobulin G Levels and Hematological Profiles in Mice. *Pharmacognosy Journal*, 13(2):535-541.
- Sukowati, S. 2010, Masalah Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD) dan Pengedaliannya di Indonesia. *Buletin Jendela Epidemiologi*, Jakarta Indonesia.
- Sunarni T, Suwidjiyo P dan Ratna A. 2007, Flavonoid Antioksidan Penangkap Radikal dari Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.), *Majalah Farmasi Indonesia*, Volume 18. Nomor 3, Hal 111- 116.
- Suryani, Ode, W., Musnina, S., & Anto, A. S. 2015, *Optimasi Formula Matriks Patch Transdermal Nanopartikel Teofilin dengan Menggunakan Metode Simplex Lattice Design ( SLD )*, 3(1), 26–32

- Suttie, A. W., Leininger, J. R., & Bradley, A. E. 2017, *Boorman's Pathology of the Rat*. Elsevier Science.
- Tan BKH, Vanitha J. 2004, Immunomodulatory and antimicrobial effects of some traditional chinese medicinal herbs: A Review, *Current Medicinal Chemistry*, 11: 1423-1430.
- Thakur, N., Bansal, M., dan Sharma, N. 2013, Overview A novel Approach of Fast Dissolving Films and Their Patients, *Advances in Biological Research*, 7(2): 50-58.
- Tomahayu, R. 2014, 'Identifikasi Senyawa Aktif dan Uji Toksisitas Ekstrak daun Binahong (*Anrederacordifolia Ten. Steenis*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)', *Skripsi*, S. Farm, Farmasi, Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo, Indonesia
- Utari, Agustina Dwi. 2019. *Pengaruh Ekstrak Daun Kenikir (Cosmos caudatus) Terhadap Jumlah Sel T CD4+IFN- $\gamma$  Dan CD8+IFN- $\gamma$  Pada Mencit (Mus Musculus) Model Kanker*. Skripsi Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Brawijaya, Malang.
- Wagner, W.L., Herbst, D.R. & Sohmer, S.H. 1999, *Manual of the Flowering Plants of Hawaii*, University of Hawaii Press, Honolulu, Hawaii.
- Wahid, A., dan Purwagada, W. 2015, Perbandingan Hasil Pemeriksaan Hitung Jenis Leukosit Menggunakan Metode Manual dengan *Laser-Based Flowcytometry*, *Jurnal Kesehatan Rajawali*, 5(9): 24-17.
- Warsita, N., Fikri, Z., dan Ariami, P. 2019, Pengaruh Lama Penundaan Pengecatan Setelah Fiksasi Apusan Darah Tepi Terhadap Morfologi Eritrosit, *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 6(2): 125-129.
- Werdhasari A. 2014, Peran Antioksidan Bagi Kesehatan, *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 3(2):59-68.
- Wilkinson, J.M, Halley, S., Towers, P.A. 2000, Comparison of Male Reproductive Parameters in Three Rat Strains: Darl Agouti, SragueDawley, and Wistar, *Lab Animals Australia*, 34(1)
- Yalcinkaya I, Gungor T, Basalan M, Erdem E. 2008, Mannan Oligosaccharides (MOS) from *Saccharomyces cerevisiae* in Broilers: Effects on Performance and Blood Chemistry, *Turk Journal Veteriner Animal Science*, 32:43-48.
- Yogiraj V, Goyal PK, Chauhan CS, Goyal A, Viass B. 2014, *Carica papaya* Linn: Ann Overview, *J International of Herbal Medicine*, 2(5): 1-8.
- Yusoff, N.A.H., Noor, N.F., Rukayadi, Y. 2015, Effects of *Cosmos caudatus* Kunth. (Ulam raja) Extract on Microflora in Raw Chicken Meat, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, Vol 4 (2): 426-435.
- Zhang, H., Zhang, J., Streisand, J., B. (2002). Oral Mucosal Drug Delivery: Clinical Pharmacokinetics and Therapeutic Applications. *Clin Pharmacokinet*, 41(9): 661-680.