



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN
SEDIAAN TEH KOMBINASI SIMPLISIA
KALIKS ROSELA (*Hibiscus sabdariffa*) DAN
HERBA PEGAGAN (*Centella asiatica*) DENGAN
METODE BERSIHAN KARBON PADA MENCIT**

SKRIPSI

YASERITA ACHIRO

0606071052

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2010**



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN
SEDIAAN TEH KOMBINASI SIMPLISIA
KALIKS ROSELA (*Hibiscus sabdariffa*) DAN
HERBA PEGAGAN (*Centella asiatica*) DENGAN
METODE BERSIHAN KARBON PADA MENCIT**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

YASERITA ACHIRO

0606071052

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2010**



*Untuk ibuku
Yang tak sempat
kuucapkan kata sayang*

*Untuk ayahku
yang tak pernah lelah
akan cintanya*

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Yaserita Achiro

NPM : 0606071052

Tanda Tangan :

Tanggal : Juli 2010

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Yaserita Achiro
NPM : 0606071052
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Immunostimulan Sediaan Teh Kombinasi kaliks Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dan herba Pegagan (*Centella asiatica*) dengan Metode Bersihan Karbon pada Mencit

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Katrin, MS (.....)

Pembimbing II : Prof. Endang Hanani, MS., Apt. (.....)

Penguji I : Dr. Yahdiana Harahap. (.....)

Penguji II : Dr. Harmita, Apt. (.....)

Penguji III : Dra. Rosmaladewi Aziz, Apt. (.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : Juli 2010

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT karena atas rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan karya ilmiah ini tepat pada waktunya. Karya ilmiah ini merupakan hasil penelitian tentang efek imunostimulan sediaan teh kombinasi kaliks rosela dan herba pegagan. Pengujian efek imunostimulan dilakukan dengan metode bersihan karbon pada mencit putih jantan.

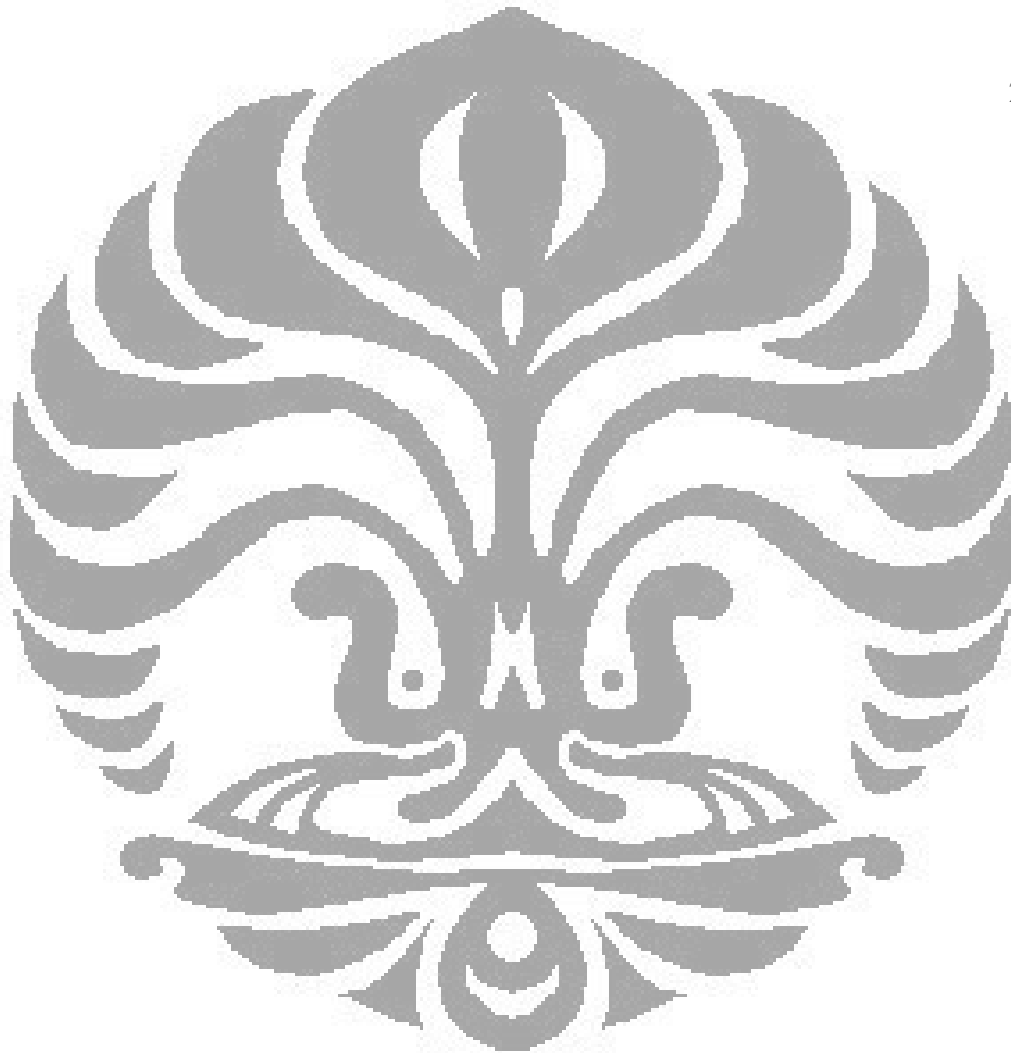
Karya ilmiah ini dapat selesai dengan bantuan dari banyak pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Yandiana Harahap selaku Ketua Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
2. Pembimbing pertama skripsi, Dr. Katrin, MS., atas semua bimbingan dan bantuan selama pengerjaan penelitian ini.
3. Pembimbing kedua skripsi, Prof. Endang Hanani, MS, Apt., atas semua bimbingan dan bantuan selama pengerjaan penelitian ini.
4. Santi Purna Sari, MSi., selaku Pembimbing Akademis penulis yang selalu memberikan semangat selama masa perkuliahan.
5. Kepala Laboratorium Farmakologi, Ibu Retnosari Andrajati.
6. Keluarga Penulis, Ayah Achirudin dan Ibu Rosmaini serta kakak John, Silvia, Yeri, Meliana, Pipit dan Arlen, yang telah memberikan dukungan moril dan materiil kepada penulis.
7. Teman-teman farmasi angkatan 2006 atas segala dukungan dan kenangannya.
8. Seluruh pihak yang telah mendukung kelancaran penelitian ini dan tidak dapat diucapkan satu per satu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu kritik dan saran yang membangun penulis harapkan untuk perbaikan di masa depan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua orang, ilmu pengetahuan, dan ilmu farmasi pada khususnya.

Penulis

2010



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

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Yaserita Achiro
NPM : 0606071052
Program Studi : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Uji Aktivitas Imunostimulan Sediaan Teh Kombinasi Kaliks Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dan Herba Pegagan (*Centella asiatica*) dengan Metode Bersihan Karbon pada Mencit.

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : Juli 2010

Yang menyatakan

(Yaserita Achiro)

ABSTRAK

Nama : Yaserita Achiro

Program Studi : Farmasi

Judul : Uji Aktivitas Immunostimulan Sediaan Teh Kombinasi Simplisia Kaliks Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dan Herba Pegagan (*Centella asiatica*) dengan Metode Bersihan Karbon Pada Mencit

Stres pada manusia dapat mengakibatkan penurunan kemampuan dari sistem imun. Oleh karena itu dewasa ini dibutuhkan pengembangan dari senyawa-senyawa berkhasiat immunostimulan. Telah dilakukan penelitian tentang efek immunostimulan dari sediaan teh kombinasi rosela (*H. sabdariffa*) dan Pegagan (*C. asiatica*) dengan metode Uji Bersihan Karbon. Sediaan teh kombinasi Rosela dan Pegagan dengan dosis 0,0078 g rosela/20gBB dan 0,0702 g pegagan /gBB tidak memiliki aktivitas immunostimulan dengan indeks fagositosis 1,209. Sediaan kombinasi rosela dan pegagan dengan dosis 0,0156 g rosela/20gBB dan 0,1404 g pegagan/20gBB memiliki aktivitas immunostimulan sedang dengan indeks fagositosis sebesar 1,416. Sediaan kombinasi rosela dan pegagan dengan dosis 0,0312 g rosela/20gBB dan 0,2808 g pegagan/20gBB memiliki aktivitas immunostimulan yang besar dengan nilai indeks fagositosis sebesar 1,665. Nilai ini lebih besar daripada nilai indeks fagositosis Zymosan, Rosela dan Pegagan yaitu secara berturut-turut 1,613; 1,314 dan 1,569. Dilakukan uji statistik pada seluruh sediaan uji dengan analisa ANOVA satu arah dan diperoleh nilai $p < 0,05$ pada pada seluruh sediaan uji bila dibandingkan dengan kontrol CMC-Na.

Kata Kunci :

Bersihan Karbon, *Centella asiatica*, *Hibiscus sabdariffa*, Immunostimulan.

xiii+51 halaman : 10 gambar ; 6 tabel ; 6 lampiran

Daftar Acuan : 39 (1964-2009)

ABSTRACT

Name : Yaserita Achiro
Study Program : Pharmacy
Title : Immunostimulant activity of combination tea consist Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) calyx and Pegagan (*Centella asiatica*) herb with carbon clearance method in mice.

Stress at human will reduce the immune system capability. So that, nowadays immunostimulant is needed to be developed. It has been done research about immunostimulant activity of tea consist Rosella (*H. sabdariffa*) and Pegagan (*C. asiatica*) by measure phagocytosis index in Carbon Clearance Test at mice. Tea bag consist of 0.0078 g rosella/20gBB and 0.0702 g pegagan/20gBB has no immunostimulant activity with phagocytosis index 1.209. Tea combination consist of 0.0156 g rosella/20gBB and 0.1404 g pegagan/20gBB has slight immunostimulant activity with phagocytosis index 1.416. Tea bag consist of 0.0312 g rosella/20gBB and 0.2808 g pegagan/20gBB has great immunostimulant activity with phagocytosis index 1.665. This activity is greater than Zymosan, Rosella and Pegagan alone with phagocytosis index 1.613; 1.314 and 1.569. One way ANOVA test showed that all of drug has immunostimulant activity greater than control with $p < 0,05$.

Keywords : Carbon clearance, *Centella asiatica*, *Hibiscus sabdariffa*, Immunostimulant.

xiii+51 pages : 10 pictures ; 6 tables ; 6 appendices

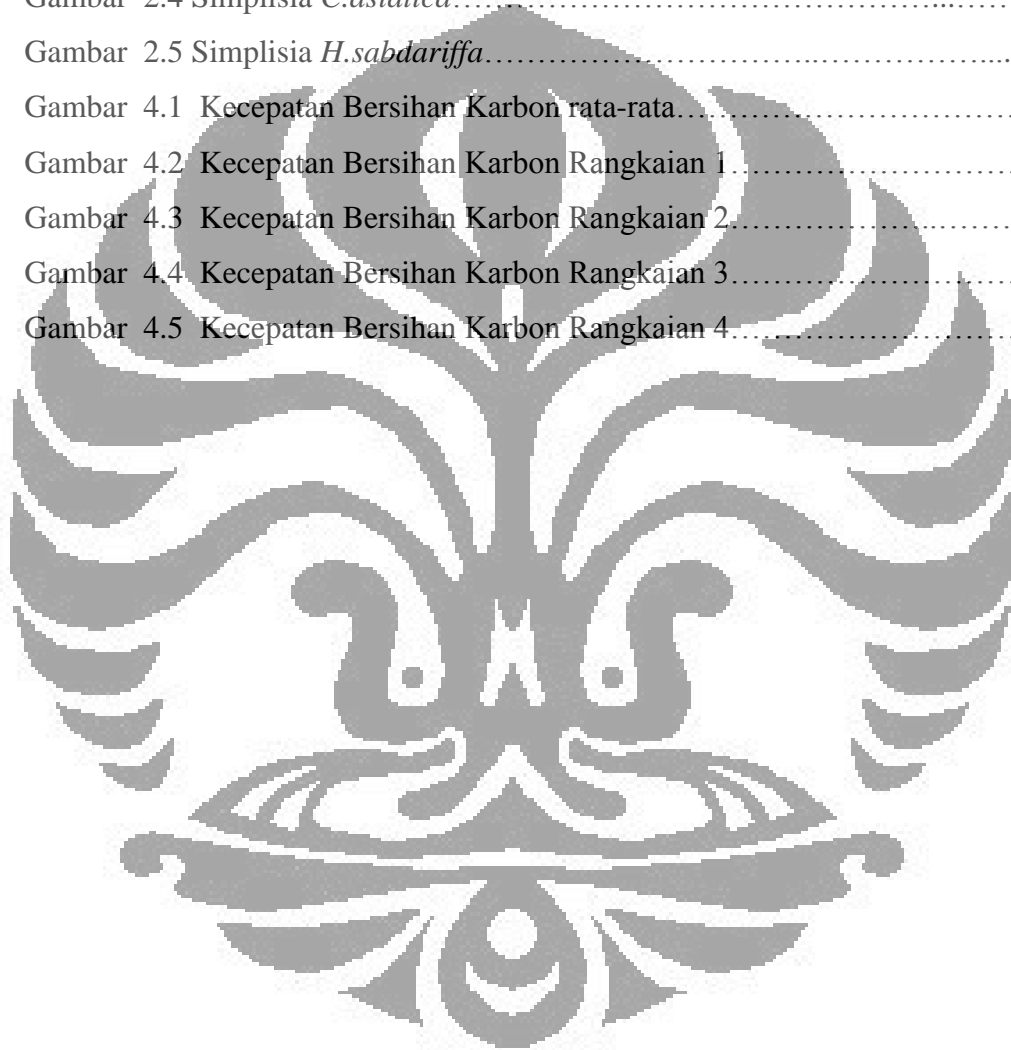
Bibliography : 39 (1964-2009)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINAL.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1, PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. RuangLingkup.....	3
1.3. MetodePenelitian.....	3
1.4 ManfaatPenelitian.....	3
1.5 Hipotesis.....	3
1.6 Tujuan.....	3
BAB 2, TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. <i>Centella asiatica</i>	4
2.2. <i>Hibiscus sabdariffa</i>	6
2.3. Sistem Imun.....	8
2.4. Imunostimulan.....	11
2.5. Uji Bersihan Karbon.....	12
2.6. Zymosan®	13
BAB 3 METODE PENELITIAN	
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	14
3.2. Alat dan Bahan.....	14
3.3. Prosedur Kerja.....	14
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Determinasi Tanaman.....	20
4.2. Penyiapan simplisia uji.....	20
4.3. Keadaan Umum Mencit.....	20
4.4. Pembuatan sediaan uji.....	21
4.5. Pembuatan Suspensi Karbon.....	21
4.6. Uji Bersihan Karbon	22
4.7. Analisis Data.....	23
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	25
5.2 Saran.....	25
DAFTAR ACUAN.....	26

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Kandungan Kimia <i>C.asiatica</i>	5
Gambar 2.2 Tanaman <i>C.asiatica</i>	29
Gambar 2.3 Tanaman <i>H.sabdariffa</i>	29
Gambar 2.4 Simplisia <i>C.asiatica</i>	30
Gambar 2.5 Simplisia <i>H.sabdariffa</i>	30
Gambar 4.1 Kecepatan Bersihan Karbon rata-rata.....	31
Gambar 4.2 Kecepatan Bersihan Karbon Rangkaian 1.....	32
Gambar 4.3 Kecepatan Bersihan Karbon Rangkaian 2.....	33
Gambar 4.4 Kecepatan Bersihan Karbon Rangkaian 3.....	34
Gambar 4.5 Kecepatan Bersihan Karbon Rangkaian 4.....	35



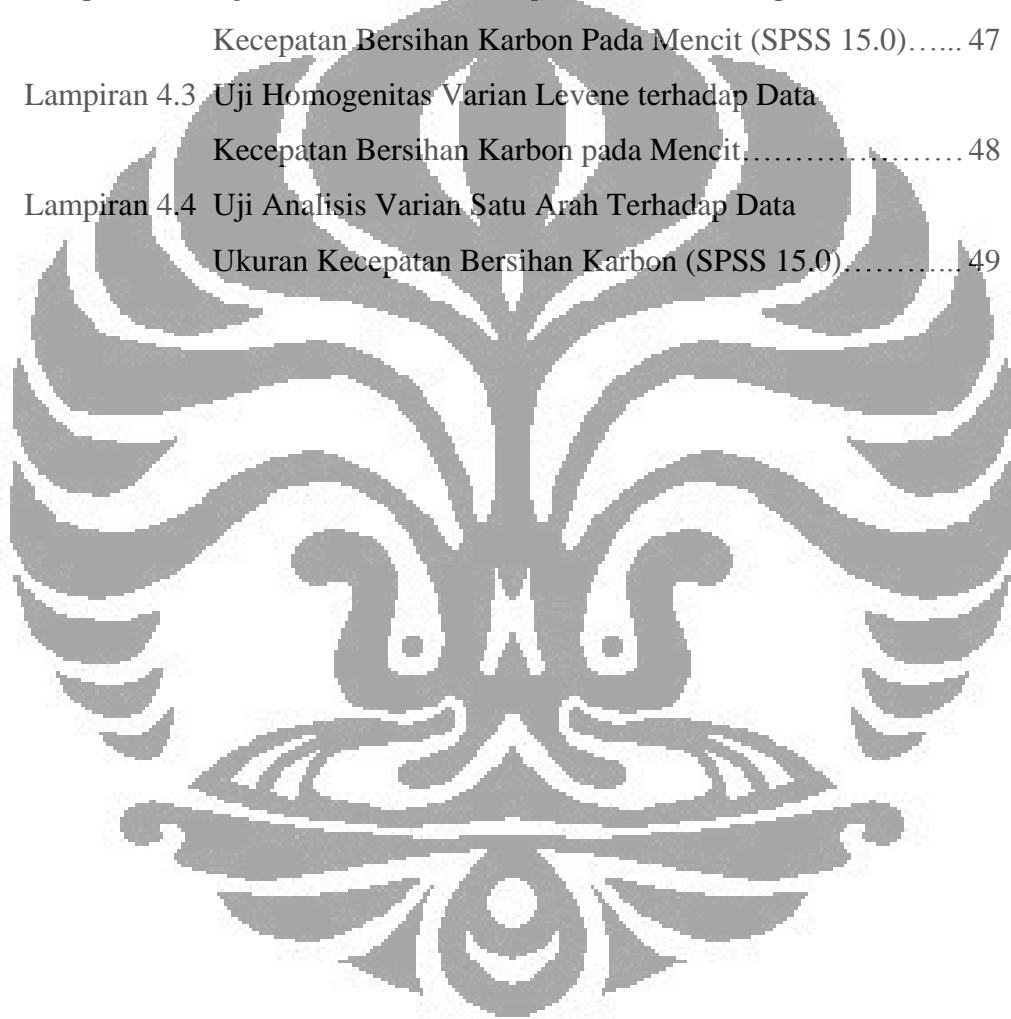
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Pembagian Kelompok Uji.....	36
Tabel 4.1 Berat Badan Mencit Pada masa Awal dan Akhir Percobaan.....	37
Tabel 4.2. Nilai Transmitan Darah	38
Tabel 4.3. Rata-rata Nilai 100-%T	39
Tabel 4.4 Kecepatan Bersihan Karbon dan Nilai Indeks Fagositosis masing-masing kelompok.....	40
Tabel 4.5. Kecepatan Bersihan Karbon dan Nilai Indeks Fagositosis rata-rata.....	41



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 3.1 Penetapan Dosis.....	42
Lampiran 3.2 Pembuatan Sediaan Uji.....	43
Lampiran 4.1 Hasil Determinasi Tanaman.....	46
Lampiran 4.2 Uji Distribusi Normal <i>Saphiro-Wilk</i> terhadap Kecepatan Bersihan Karbon Pada Mencit (SPSS 15.0).....	47
Lampiran 4.3 Uji Homogenitas Varian Levene terhadap Data Kecepatan Bersihan Karbon pada Mencit.....	48
Lampiran 4.4 Uji Analisis Varian Satu Arah Terhadap Data Ukuran Kecepatan Bersihan Karbon (SPSS 15.0).....	49



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kehidupan modern seperti sekarang membentuk pola hidup yang tidak baik pada manusia. Aktivitas yang padat, waktu istirahat yang kurang serta tekanan dari lingkungan membuat manusia mudah terkena stres. Pada individu yang stres, akan terjadi beberapa perubahan fisiologi dalam tubuhnya diantaranya adalah peningkatan hormon glukokortikoid di dalam tubuh penderita stres (Griffin, 1989). Telah diketahui bahwa glukokortikoid merupakan hormon yang bersifat menekan kerja dari sistem imun. Mekanisme penekanannya belum jelas, namun penekanan mungkin diakibatkan oleh kemampuan hormon ini dalam mereduksi jumlah limfosit dan monosit yang beredar di dalam peredaran sistemik serta menekan produksi dari interleukin-1 dan interleukin-2 (Shetty, 2005). Limfosit, monosit, interleukin-1 serta interleukin-2 merupakan komponen dari sistem pertahanan tubuh manusia yang dikenal juga sebagai sistem imun. Penekanan pada komponen-komponen sistem imun mengakibatkan penekanan pada kerja dari sistem imun secara keseluruhan. Padahal sistem imun memegang peranan penting dalam melawan serangan mikroorganisme asing yang dapat menyebabkan penyakit pada tubuh (Goodman & Gilman, 2006).

Selain faktor stres, banyak faktor lain yang dapat melemahkan sistem imun yang mudah sekali pemaparannya seperti polusi, zat kimia beracun, radiasi sinar ultraviolet, bakteri, virus, transfusi darah, operasi, konsumsi alkohol, rokok, obat-obatan terutama golongan steroid dan senyawa radikal bebas baik dari luar tubuh maupun hasil metabolisme tubuh. Oleh karena itu dibutuhkan suatu senyawa tambahan yang dapat menjaga pertahanan tubuh tetap relatif baik yaitu senyawa imunostimulan.

Imunostimulan bekerja dengan meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non spesifik. Namun diperlukan adanya pemaparan berulang dari senyawa ini untuk menghasilkan sitokin yang mampu mengaktivasi makrofag, sebab tanpa adanya pemaparan berulang dalam jangka waktu tertentu mengakibatkan dalam tubuh tidak akan dijumpai limfosit T

spesifik yang mensekresikan sitokin yang dapat mengaktivasi makrofag (Roitt, 2001). Berdasarkan hal tersebut maka diperlukan imunostimulan yang tingkat ketersediaannya tinggi sehingga bisa diberikan berulang dalam jangka waktu panjang seperti imunostimulan yang berasal dari alam.

Perkembangan dari senyawa imunostimulan yang berasal dari bahan alam cukup baik. Telah diteliti beberapa contoh tanaman yang memiliki aktivitas imunostimulan seperti *Pylanthus niruri*, *Caparus zeylanica*, *Centella asiatica* dan *Elcipta alba*. Senyawa yang terkandung dalam tanaman yang memiliki khasiat sebagai imunostimulan memiliki mekanisme kerja yang berbeda. Beberapa tanaman dapat secara langsung mempengaruhi sistem imun tetapi ada juga yang tidak secara langsung. Tanaman yang secara langsung mempengaruhi sistem imun pada umumnya bekerja dengan cara meningkatkan kemampuan sistem imun untuk bekerja. Di lain pihak, tanaman yang secara tidak langsung mempengaruhi sistem imun, misalnya tanaman yang mengandung antioksidan, bekerja dengan cara melindungi komponen-komponen sistem imun agar terhindar dari kerusakan akibat senyawa radikal bebas (Bendich, 1992).

Centella asiatica dan *Hibiscus sabdariffa* telah diketahui merupakan tanaman yang memiliki aktivitas imunostimulan. Ekstrak air dari herba *Centella asiatica* sebanyak 100 mg/kgBB dapat menginduksi terbentuknya antibodi primer dan sekunder (Punturee, Wild, Kasinkerk & Vinitketkumnuen, 2005). Sedangkan sebanyak 50 mg/kgBB ekstrak etanol dan ekstrak air dari kaliks *Hibiscus sabdariffa* masing-masing memiliki aktivitas imunostimulan yang lebih tinggi dibandingkan dengan Levamisol (Fakeye, Anirhan, Bawankule & Khanuja, 2006).

Pada penelitian ini akan diuji aktivitas imunostimulan dari sediaan teh kombinasi herba pegagan dan kaliks rosela. Kombinasi dari dua zat yang memiliki aktivitas yang sama diharapkan dapat memberikan interaksi sinergis yang akan memperkuat dari efek zat tersebut. Selain itu, pada penelitian sebelumnya telah diuji adanya aktivitas antioksidan dari sediaan teh kombinasi kaliks rosela dan herba pegagan. Kombinasi ini memiliki aktivitas antioksidan paling baik pada perbandingan satu bagian kaliks rosela dengan sembilan bagian dari herba pegagan (Indrata, 2009). Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah aktivitas antioksidan kombinasi kaliks rosela dan herba

pegagan dapat menstimulasi sistem imun sehingga dapat diperoleh sediaan teh herbal yang berguna bagi masyarakat di kemudian hari.

1.2. Ruang Lingkup

Ruang lingkup Pada penelitian ini akan adalah Fitokimia dan Farmakologi

1.3. Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimental laboratorium

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian kali ini adalah diperoleh sediaan teh kombinasi kaliks rosela dan herba pegagan yang memiliki aktivitas imunostimulan.

1.5. Hipotesis

Sediaan teh kombinasi rosela dan pegagan memiliki aktivitas imunostimulan

1.6. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan aktivitas imunostimulan dari sediaan teh kombinasi simplisia kaliks rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dan herba pegagan (*Centella asiatica*) dengan metode bersihan karbon pada mencit.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Centella asiatica*

2.1.1. Deskripsi Umum

Centella asiatica atau yang lebih sering dikenal dengan pegagan merupakan tanaman herba tahunan yang hidup di tempat tropis. Adapun taksonomi dari tanaman ini adalah (Jones & Luchsinger, 1987) :

Dunia : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub Kelas : Rosidae
Bangsa : Apiales
Suku : Apiaceae
Marga : *Centella*
Jenis : *Centella asiatica* (L.) Urban

2.1.2. Morfologi tanaman

Ujung herba berbentuk ramping dengan bagian akar yang terdapat nodus-nodus. Daun tunggal tersusun dalam roset yang terdiri atas dua sampai sepuluh daun. Daun kadang-kadang berbulu. Tangkai daun panjangnya dapat mencapai 50 mm, helai daun berbentuk ginjal, lebar dan bundar. Diameter daun berkisar antara 1.3 – 6.3 cm dengan panjang antara 2-5 cm. Bunganya kecil berwarna putih atau kemerahan. Bagian merikarp lebih besar sedangkan bagian perikarp lebih tebal. Bijinya tertanam secara lateral. Buah dari tanaman ini bentuknya pipih, lebarnya sekitar tujuh milimeter dengan tinggi mencapai tiga milimeter. Simplisia kering dari tanaman ini akan berwarna hijau keabu-abuan, memiliki bau yang khas dan rasa manis bercampur pahit (Prosea 12, 1999). Gambar dari tanaman ini dapat dilihat pada Gambar 2.2.

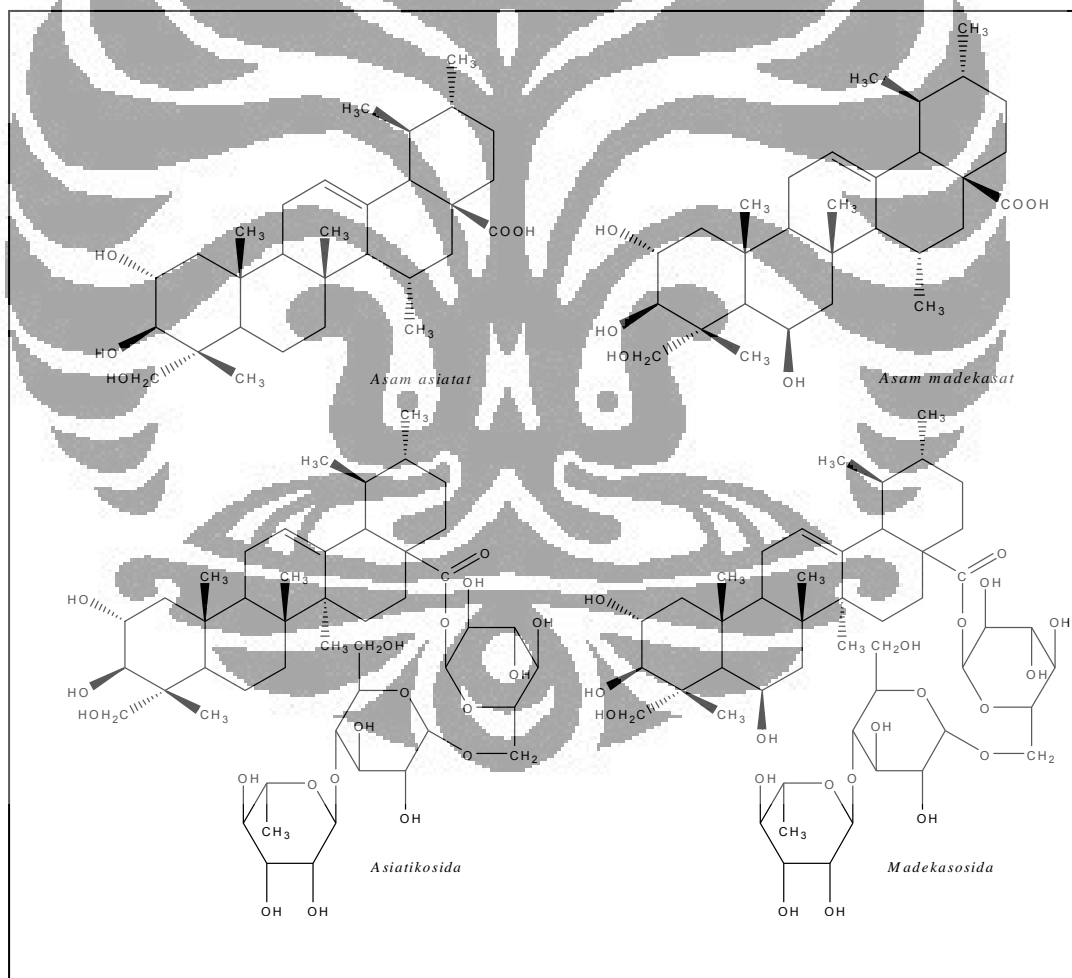
2.1.3. Penyebaran dan Ekologi

Pegagan bersifat kosmopolitan tumbuh liar di tempat-tempat yang lembab pada intensitas sinar yang rendah (ternaungi) hingga pada tempat-tempat terbuka, seperti di padang rumput, pinggir selokan, pematang sawah.

Tanaman ini dapat tumbuh di daerah beriklim tropis, dataran rendah hingga ketinggian 2500 m di atas permukaan laut (*Medicinal Herb*, 1995).

2.1.4. Kandungan Kimia

Kandungan utama herba pegagan adalah asam triterpen asiatik dan asam madekasat serta derivat triterpen ester glikosida, asam asiatat, asiatikosida dan madekasosida (Tang & Eisenbrand, 1992). Berikut ini adalah gambar dari kandungan kimia *Centella asiatica*:



(Sumber: Tang & Eisenbrand, 1992 “telah diolah kembali”)

Gambar 2.1. Struktur Kandungan Kimia Herba Pegagan

2.1.5. Aktifitas Farmakologi

Herba pegagan telah diketahui secara luas memiliki aktivitas farmakologi diantara lain adalah untuk mengobati luka, mencegah terbentuknya keloid dan bekas luka. Selain itu ekstrak dari tanaman ini digunakan secara topikal untuk mempercepat penyembuhan luka (Wannarat, 2009). Ekstrak juga dapat digunakan secara oral untuk mengobati stres duodenal dan stress lambung (Punturee, Wild, Kasinkerk & Vinitketkumnuen, 2005).

Aktivitas farmakologi dari tanaman ini mungkin disebabkan oleh kandungan beberapa saponin di dalamnya termasuk asiatikosida, asam asiatika dan asam madekasat. Secara *in vivo*, setiap komponen akan menstimulasi pembentukan jaringan kolagen pada manusia (Wannarat, 2009). Selain itu, kandungan saponin ini juga dapat mereduksi tukak lambung, bahkan pada beberapa penelitian kapasitas pereduksian tukak ini sama seperti famotidine (Wannarat, 2009).

Penelitian terdahulu mengenai herba pegagan memberikan hasil bahwa tanaman ini memiliki aktivitas antioksidan (Indrata, 2009).

2.2. *Hibiscus sabdariffa*

2.2.1. Deskripsi Umum

Sebelum dikenal sebagai simplisia yang mengandung senyawa antioksidan, tanaman *H. sabdariffa* terlebih dahulu dikenal sebagai tanaman yang dapat digunakan sebagai material pembuatan karung goni. Bagian tanaman yang digunakan adalah bagian kulit batang. Namun sekarang penggunaan dari tanaman *Hibiscus sabdariffa* sudah meluas yakni bagian kaliks sebagai sumber antioksidan serta bijinya dapat digunakan sebagai terapi tambahan pada penderita disuria (*Medicinal Herb*, 2009).

Tanaman ini memiliki taksonomi sebagai berikut (Jones & Luchsinger, 1987):

- Dunia : Plantae
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Magnoliopsida

Sub kelas : Dillenidae
Bangsa : Malvales
Suku : Malvaceae
Marga : Hibiscus
Jenis : *Hibiscus sabdariffa* L.

2.2.2. Morfologi tanaman

Tanaman *H. sabdariffa* merupakan tanaman semak berkayu yang tumbuh mencapai tinggi 2 meter. Daun berbentuk bulat dengan panjang 8 – 15 cm dan tersusun di sepanjang batang. Bunga melintang dengan panjang antara 8 – 10 cm, memiliki warna kuning keputih-putihan dan daerah berwarna merah tua pada dasar setiap daun bunga. Dasar bunga terdapat kelopak bunga berwarna merah yang kokoh dan berdaging dengan lebar 1,5 cm – 2 cm yang menjadi terang seperti buah yang matang (Mahadevan, Shivali, & Kamboj, 2009).

Tanaman ini memiliki dua varietas dengan budidaya dan manfaat yang berbeda, yaitu : (a) *H. sabdariffa* var. *Altisima*, rosela berkelopak bunga kuning yang sudah lama dikembangkan untuk diambil serat batangnya sebagai bahan baku pulp dan karung goni; dan (b) *H. sabdariffa* var. *Sabdariffa*, rosela berkelopak bunga merah yang kini mulai diminati petani dan dikembangkan untuk diambil kelopak bunga dan bijinya (Vademekum Bahan, 1989). Gambar dari tanaman dan simplisia ini dapat dilihat pada Gambar 2.3.

2.2.3. Habitat dan Penyebaran

H. sabdariffa merupakan tanaman asli dari Afrika yang tersebar luas di daerah Afrika Barat, Asia, Australia dan daerah tropis lainnya. Penyebaran dari tanaman ini paling baik pada Nigeria. Tanaman ini merupakan herbal tahunan dengan tempat tumbuh pada daerah panas. Tempat penyebaran rosela paling banyak di Indonesia terdapat pada daerah pulau Jawa dan Ujung Pandang (Medicinal Herb, 1989)

2.2.4. Kandungan Kimia

Daun dari tanaman *H. sabdariffa* dilaporkan mengandung protein, lemak, karbohidrat, serat, kalsium, fosfor, β -karoten, riboflavin, niasin dan asam askorbat. Bunga mengandung pigmen berwarna kuning dengan pigmen mayoritas adalah *daphnyphylline*. Tanaman mengandung flavonoid seperti hibisitrin dan hibisetin sedangkan kaliks yang kering mengandung flavonoid gosipetin, hibisetin dan sabdaretin. Kaliks juga mengandung alkaloid, β -sitosterol, antosianin, asam sitrat, asam askorbat, kuersetin dan asam stearat. Kaliks kaya akan asam dan pektin. Selain itu telah dianalisis juga bahwa kaliks mengandung protein dan mineral seperti mangan, aluminium, magnesium, natrium dan kalium. Biji dari tanaman ini mengandung protein, lemak dan serat. Bagian biji merupakan sumber mineral yang baik seperti fosfor, magnesium, kalsium dan triptofan. (Mahadevan, Shivali, & Kamboj, 2009)

2.2.5. Aktivitas Farmakologi

Telah dilaporkan bahwa ekstrak air dari kaliks rosela menunjukkan penurunan tekanan arterial sehingga memiliki efek antihipertensi pada tikus. Ekstrak air-etanol dengan perbandingan 1:1 dari kaliks menunjukkan penurunan yang signifikan dari peroksidasi lemak pada kerusakan hati yang diinduksi oleh CCl_4 . Ekstrak etanol dari kaliks memiliki aktivitas antioksidan. Kandungan antosianin pada kaliks dapat menyebabkan apoptosis dari sel kanker. Ekstrak etanol dan air memiliki aktivitas antipiretik pada hewan coba (Mahadevan, Shivali, & Kamboj, 2009).

2.3. Sistem Imun

Secara historis, imunitas memiliki definisi sebagai perlindungan terhadap penyakit atau secara khusus terhadap penyakit infeksi. Efek dari adanya imunitas yang dikenali oleh sistem imun disebut respon imun yaitu dapat berupa pengenalan substansi asing hingga pengeliminasian. Namun, sekarang secara luas respon imun didefinisikan sebagai reaksi imunitas terhadap adanya substansi asing dalam tubuh termasuk mikroba dan makromolekul lainnya seperti protein dan polisakarida (Bellanti, 1993).

Respon imun tubuh menjalankan tiga fungsi yaitu pertahanan, homeostasis dan pengawasan. Fungsi pertama, sesuai dengan definisi sistem imun, sistem imun akan mempertahankan tubuh dari adanya invasi substansi asing. Fungsi kedua merupakan fungsi pemusnahan sel-sel yang tidak berguna dari tubuh. Homeostasis ini memperlihatkan fungsi degenerasi dan katabolik normal dari sel-sel tubuh sendiri. Fungsi ketiga meliputi kemampuan untuk menemukan dan menghancurkan substansi asing tadi (Bellanti, 1993).

Manusia yang sehat akan memproteksi dirinya melawan imunogen-imunogen dengan berbagai mekanisme yang diperantarai oleh komponen-komponen sistem imun seperti barrier khusus, limfosit, sel pembunuh alami, sel fagositik, dll. Adanya perbedaan mekanisme itu membuat sistem imun dapat dibagi menjadi dua kelompok besar yaitu imunitas spesifik dan imunitas non spesifik (Bratawijaya, 1996).

Respon imun nonspesifik disebut juga imunitas alamiah adalah mekanisme pertahanan yang tidak ditujukan hanya untuk satu jenis antigen, tetapi untuk berbagai macam antigen. Imunitas alamiah sudah ada sejak bayi lahir dan terdiri atas berbagai macam elemen non spesifik. Jadi imunitas alamiah bukan merupakan pertahanan khusus untuk antigen tertentu (Elgert, 1996).

Respon imun nonspesifik merupakan pertahanan pertama pada sistem imun. Respon imun nonspesifik terdiri dari dua mekanisme pertahanan yaitu imunitas internal didapat dan imunitas eksternal didapat. Imunitas eksternal didapat merupakan barrier awal pada tubuh yang menghalangi substansi asing untuk berpenetrasi ke dalam tubuh. Komponen-komponen tubuh yang tergabung dalam mekanisme ini adalah kulit, kelenjar sekretori dan membran mukosa. Kulit mensekresikan asam laktat dan asam lemak yang bersifat bakteristatik dengan cara menurunkan pH kulit. Air mata melindungi mata dengan mencuci mata serta menghasilkan enzim hidrolitik *lysozime* yang melawan bakteri gram positif. Bila bakteri patogen dikonsumsi dan masuk ke dalam sistem pencernaan, rendahnya pH pada lambung akan membunuh bakteri tersebut (Elgert, 1996)

Imunitas internal didapat mulai bekerja setelah bakteri patogen masuk ke dalam tubuh. Mekanisme yang tergabung dalam imunitas internal didapat diantaranya barrier fisiologi, fagositosis dan inflamasi. Barrier fisiologi

memaparkan kondisi yang tidak ramah terhadap patogen. Suhu tubuh dan tekanan oksigen merupakan komponen dalam barier fisiologi. Contoh dari imunitas internal didapat adalah ayam akan resisten terhadap virus anthrax karena temperatur tubuhnya yang tinggi. Mekanisme lain yang lebih efektif dibandingkan barier fisiologi adalah adanya fagositosis oleh makrofag. Makrofag akan memakan bakteri, sel-sel yang rusak atau bahkan sel-sel yang mati. Selain itu selama proses fagositosis, makrofag juga akan mengeluarkan monokin seperti interleukin-1, interleukin-6 dan *tumor necrosis factor* yang mengaktifkan banyak efek protektif nonspesifik selama inflamasi. Namun demikian efektifitas fagositosis melawan antigen tidak terlalu baik. Respon imunitas internal didapat lainnya adalah inflamasi. Respon inflamasi diinisiasi oleh mediator kimia yang dihasilkan oleh makrofag ketika makrofag gagal mempertahankan tubuh dari substansi asing (Baratawidjaja, 1996).

Respon imun spesifik atau disebut juga imunitas didapat adalah mekanisme pertahanan yang ditujukan khusus terhadap satu jenis antigen sehingga tidak dapat berperan terhadap antigen jenis lain. Perbedaan antara respon imun non spesifik dengan respon imun spesifik adalah respon imun spesifik harus kontak atau ditimbulkan terlebih dahulu oleh antigen tertentu, baru ia akan terbentuk. Sedangkan pertahanan tubuh non spesifik sudah ada sebelum kontak dengan antigen. Oleh karena itu pembentukan dari sistem imunitas ini respon imun spesifik disebut juga imunitas pasif. Respon imun spesifik diklasifikasikan menjadi dua tipe berdasarkan komponen sistem imun yang memediasi sistem imun. Tipe yang pertama adalah imunitas humoral yang dimediasi oleh antibodi, bertanggung jawab untuk mengenali dan mengeliminasi antigen. Sedangkan tipe yang kedua adalah imunitas seluler dimediasi oleh limfosit T.

Secara klinis, imunitas tidak dapat diukur dengan mentransfer sel atau antibodi atau dengan menguji resistensi individual terhadap infeksi. Oleh karena itu, dalam pengujian imunitas dilakukan dengan pemajanan antigen pada host dan diukur respon antibodinya setelah pemajanan berulang (Baratawidjaja, 1996).

2.4. Imunostimulan

Imunostimulan adalah senyawa kimia yang dapat meningkatkan pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non spesifik melalui induksi mekanisme pertahanan seluler maupun humoral (Baratawidjaja, 1996). Imunostimulan nonspesifik dapat meningkatkan respon makrofag terhadap infeksi karena adanya sekresi sitokin atau limfokin oleh limfosit T (Abbas, 2000). Kelemahan dari imunostimulan adalah diperlukan adanya pemaparan berulang untuk menghasilkan sitokin yang mampu mengaktivasi makrofag sebab tanpa adanya pemaparan berulang dalam jangka waktu tertentu mengakibatkan dalam tubuh tidak akan dijumpai limfosit T spesifik yang mensekresikan sitokin yang dapat mengaktivasi makrofag (Roitt, 2001). Berdasarkan hal tersebut, diperlukan imunostimulan yang tingkat ketersediaannya tinggi sehingga bisa diberikan berulang dalam jangka waktu panjang seperti imunostimulan yang berasal dari alam.

Obat alam dapat mempengaruhi mekanisme pertahanan atau sistem imunitas tubuh, yang meliputi sistem imunitas spesifik maupun non spesifik. Namun pengaruh tersebut lebih tertuju pada sistem imunitas tubuh yang tidak spesifik, suatu sistem imunitas yang terdiri atas komplemen dan sel-sel fagositik. Obat-obat yang berpengaruh terhadap sistem imunitas non spesifik merupakan obat-obat yang bersifat non antigen. Obat-obat non antigen tersebut ada yang mempengaruhi sel-sel memori imunologik dan ada pula yang tidak. Untuk yang tidak dapat mempengaruhi sel-sel memori, efek farmakologinya menurun dengan cepat, oleh karena itu perlu digunakan secara bersinambungan atau dalam interval (Hargono, 1996).

Metode pengujian aktivitas imunostimulan dilakukan dengan banyak cara menurut sistem imun yang akan distimulasi. Berikut ini beberapa metode pengujian aktivitas imunostimulan :

2.4.1. Aktivitas Imunostimulan Non Spesifik Seluler

a. Pengukuran Kecepatan Bersihan Karbon

Uji dilakukan dengan mengukur kecepatan eliminasi senyawa karbon sebagai salah satu daya tanggap terhadap respon imun nonspesifik (Wagner & Jurcic, 1991).

2.4.2. Aktivitas Immunostimulan Non Spesifik Humoral

a. Uji Migrasi Leukosit

Uji merupakan metode yang dilakukan berdasarkan hambatan migrasi leukosit akibat pengaruh dari faktor kemotaksis (Wagner & Jurcic, 1991).

2.4.3. Aktivitas Immunostimulan Spesifik Humoral

a. Pengukuran Titer Antibodi

Metode hemaglutinasi sel darah merah domba sebagai antigen akibat reaksi dengan antibodi. Komponen yang diuji adalah antibodi primer IgM atau antibodi sekunder IgG. (Puri, 1991)

2.4.4. Aktivitas Immunostimulan Spesifik Seluler

a. Hipersensitivitas Tipe Lambat

Metode hipersensitivitas tipe lambat dengan pemberian sel darah merah domba sebagai antigen secara lokal subkutan pada telapak kaki hewan coba dapat digunakan untuk mengevaluasi aktivitas terhadap sistem imun seluler hewan coba tersebut. Perbesaran ukuran kaki hewan coba akibat reaksi ini merupakan parameter kemampuan reaksi imun seluler hewan coba (Hudson, 1976).

Menurut beberapa penelitian, bahan yang mempunyai aktivitas immunostimulan dapat berupa senyawa dengan bobot molekul rendah seperti alkaloid, terpenoid serta senyawa-senyawa fenol atau berupa senyawa dengan bobot molekul tinggi seperti protein, glikoprotein dan polisakarida. (Wagner, Kraus & Jurcic, 1999)

2.5. Uji Bersihan Karbon

Uji bersihan karbon dilakukan untuk menilai kapasitas fagositosis yang tergabung dalam respon imun non spesifik. Hasil yang akan diperoleh dari uji ini adalah berupa kecepatan dari pembersihan senyawa karbon oleh sistem retikuloendotelial (Wagner & Jurcic, 1991).

Sistem retikuloendotelial didesain sebagai jebakan bagi antigen-antigen asing yang masuk ke dalam tubuh dan menjadikan antigen tersebut sebagai sasaran untuk di fagositosis dan didegradasi. Antigen yang masuk ke dalam tubuh, seperti partikel-partikel karbon, akan masuk ke dalam aliran darah dan dengan segera dibawa ke limpa. Sel-sel makrofag yang terdapat di limpa akan memfagositosis antigen asing tersebut (Leskowitz, 1991).

Uji bersihan karbon dilakukan dengan cara menginjeksikan suspensi karbon pada hewan coba. Lalu kecepatan pembersihan karbon dari darah diukur dengan cara melihat transmittan darah hewan coba pada waktu antara 0 hingga 45 menit. Dari data transmittan dibuat kurva 100-% Transmittan berbanding waktu. Kemiringan dari kurva ini adalah kecepatan pembersihan karbon dari darah (Hudson, 1976).

Kecepatan bersihan karbon yang diperoleh dari hewan coba yang diberikan sediaan uji dibandingkan dengan kecepatan bersihan karbon pada hewan coba kontrol untuk diperoleh indeks fagositosis. Nilai indeks fagositosis antara 1,0-1,2 menunjukkan tidak terdapat aktivitas imunostimulan. Nilai indeks fagositosis antara 1,3-1,5 sediaan menunjukkan terdapat aktivitas imunostimulan sedang. Nilai indeks fagositosis lebih besar dari 1,5 sediaan menunjukkan terdapat aktivitas imunostimulan yang kuat (Wagner & Jurcic, 1991).

2.6. Zymosan® (*Merck Index*, 1976)

Zymosan® merupakan polisakarida yang diperoleh dari dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* yang pertama kali dilakukan oleh Pillemer dan Ecker.

Serum dari mamalia mengandung protein Properdin yaitu suatu protein yang penting bagi imunitas alami tubuh. Properdin akan berkonjugasi dengan faktor komplemen dan ion magnesium yang akan mendestruksi bakteri dan sel darah abnormal serta melakukan netralisasi dan inaktivasi beberapa virus. Ragi dari Zymosan® A memiliki aktivitas imunostimulan yaitu mengaktifkan tiga komponen komplemen namun membutuhkan keberadaan dari protein properdin. Zymosan® juga dapat menginduksi agregasi dan reaksi pelepasan pada plasma manusia yang kaya akan platelet.

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI, Depok sejak bulan Maret hingga Juni 2010.

3.2. Bahan dan Alat

3.2.1. Bahan

Simplisia kaliks rosela kering (Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik-Bogor), simplisia herba pegagan kering (Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik-Bogor), akuades, Zymosan® (Sigma), CMC-Na, heparin, asam asetat 1%, tinta pelikan (CII/1431, Gunther Wagner AG, Pelikan Werk), NaCl fisiologis, gelatin.

3.2.2. Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan galur ddY usia 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 g. Hewan diperoleh dari Balai Penelitian Veteriner Bogor.

3.2.3. Alat

Spektrofotometer UV-Vis (Thermo Spectronic Genesys 20), timbangan analitik, sentrifugator, mikropipet (Socorex), spuit injeksi 1 ml, *syringe*, sonde lambung mencit, penangas air, kertas saring, kertas perkamen, autoklaf dan alat-alat gelas laboratorium lainnya.

3.3. Prosedur Kerja

3.3.1. Determinasi Tumbuhan

Tumbuhan yang diuji dalam penelitian ini telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Balitbang Botani, Puslitbang Biologi, LIPI Bogor. Determinasi dilakukan untuk mendapatkan nama tumbuhan yang tepat.

3.3.2. Pengumpulan dan Penyediaan Simplisia

Simplisia kering yang diperoleh diblender sampai menjadi serbuk kasar, kemudian diayak dengan ayakan B30 untuk memisahkan dari serbuk yang terlalu halus. Serbuk kasar yang diperoleh disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat.

3.3.3. Penetapan Dosis

Sediaan teh dibuat dengan cara menyeduh serbuk kasar rosela dan pegagan (1:9) dalam air panas suhu 80°C. Teh yang akan dibuat sebanyak 3 gram sehingga diperoleh dosis untuk rosela adalah 0,3 gram sedangkan untuk pegagan adalah 2,7 gram. Dosis tersebut merupakan dosis pada manusia dengan volume teh yang dibuat sebanyak 200 ml. Untuk diaplikasikan kepada mencit, dosis tersebut harus dikalikan dengan faktor konversi 0,0026 dan faktor farmakokinetik sehingga diperoleh dosis untuk mencit adalah sebagai berikut :

$$\text{Dosis I rosela} = 0,3 \text{ g} \times 0,0026 \times 10 = 0,0078 \text{ g/20 gBB}$$

$$\text{Dosis I pegagan} = 2,7 \text{ g} \times 0,0026 \times 10 = 0,0702 \text{ g/20 gBB}$$

Pada penelitian ini akan diggunakan dosis kombinasi dari kedua simplisia tersebut. Variasi dosis yang digunakan untuk dosis kombinasi simplisia adalah :

$$\text{Dosis I} : 0,0078 + 0,0702 \text{ g} = 0,780 \text{ g/20 gBB}$$

$$\text{Dosis II (2}^1\text{)} : 2 (0,0078) \text{ g} + 2 (0,0702) \text{ g} = 0,0156 \text{ g} + 0,1404 \text{ g} = 0,0156 \text{ g/20 gBB}$$

$$\text{Dosis III (2}^2\text{)} : 4 (0,0078) \text{ g} + 4 (0,0702) \text{ g} = 0,0312 \text{ g} + 0,2808 \text{ g} = 0,0312 \text{ g/20 gBB}$$

Sebagai kontrol positif digunakan Zymosan® dengan dosis 0,1 mg/kgBB mencit. Sedangkan sebagai kontrol pembawa digunakan larutan CMC-Na 0,5%. Perhitungan dosis lengkap dapat dilihat pada lampiran 3.1.

3.3.4. Pembuatan Sediaan Uji

a. Larutan CMC-Na 0,5%

Sebanyak 500 mg serbuk CMC-Na 0,5% dilarutkan di dalam 100 ml akuades hangat. CMC-Na dibiarkan mengembang selama setengah jam, lalu digerus hingga diperoleh larutan CMC-Na 0,5% yang homogen.

b. Suspensi Teh Kombinasi

Sebanyak 0,3 gram rosela dan 2,7 gram pegagan dimasukkan ke dalam kantung teh. Sepuluh buah kantung teh diseduh dalam akuades panas dengan suhu 80°C selama lima menit. Teh lalu dikeringkan dalam penangas air. Ekstrak kental yang diperoleh disuspensikan dalam larutan CMC-Na 0,5% hingga diperoleh total volume 24 ml. Suspensi ini adalah suspensi sediaan dengan dosis 3. Dari sediaan dosis 3 dilakukan pengenceran hingga diperoleh dosis 2 dan dosis 1. Perhitungan pengenceran dari sediaan ini dapat dilihat pada lampiran 3.2.

c. Suspensi Teh Tunggal Rosela

Sebanyak 0,3 gram rosela dimasukkan ke dalam kantung teh. 1 buah kantung teh diseduh dalam akuades panas dengan suhu 80°C selama lima menit. Teh lalu dikeringkan dalam penangas air. Ekstrak kental yang diperoleh disuspensikan dalam larutan CMC-Na 0,5% hingga diperoleh total volume 9,6 ml.

d. Suspensi Teh Tunggal Pegagan

Sebanyak 2,7 gram pegagan dimasukkan ke dalam kantung teh. 1 buah kantung teh diseduh dalam akuades panas dengan suhu 80°C selama lima menit. Teh lalu dikeringkan dalam penangas air. Ekstrak kental yang diperoleh disuspensikan dalam larutan CMC-Na 0,5% hingga diperoleh total volume 9,6 ml.

e. Zymosan®

Untuk membuat larutan Zymosan® ditimbang sebanyak 26 mg Zymosan® dan dilarutkan dalam 5 ml NaCl fisiologis 0,9%.

3.3.5. Pembuatan Suspensi Karbon (Wagner & Jurcic, 1991)

Larutan stok dari suspensi karbon dibuat dari tinta karbon pelikan (CII/1431, Gunther Wagner AG, Pelikan Werk). Tinta karbon dilarutkan ke dalam 1 % (b/v) gelatin dalam NaCl 0,9% (b/v). Larutan harus dibuat baru dan dipertahankan tetap berada pada suhu 50⁰C untuk mencegah peningkatan konsistensi dari suspensi karbon akibat gelatin yang mengental pada suhu dingin.

3.3.6. Uji Aktivitas Imunostimulan

a. Persiapan Hewan Coba

Sebanyak 28 mencit putih jantan galur ddY dikelompokkan menjadi tujuh kelompok sesuai dengan kelompok perlakuannya. Perhitungan jumlah hewan coba dalam setiap kelompok berdasarkan rumus Federer (E. Sugandi & Sugiarto, 1994) adalah sebagai berikut :

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

$$(7-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$n \geq 3,5 \approx 4$$

n = jumlah hewan coba dalam tiap kelompok

t = jumlah kelompok

Hasil perhitungan diperoleh jumlah hewan coba dalam setiap kelompok minimal empat hewan coba. Dalam penelitian ini digunakan empat hewan coba pada masing-masing kelompok. Berikut ini adalah kelompok hewan uji yang digunakan dalam penelitian kali ini.

1. Kelompok 1 : kelompok kontrol, diberi suspensi CMC-Na 0,5 % secara oral
2. Kelompok 2 : kelompok kontrol positif, diberi Zymosan® dengan dosis 0,1 mg/ kg BB melalui injeksi intraperitoneal serta larutan CMC-Na 0,5% secara oral.

3. Kelompok 3 : diberi sediaan kaliks rosela secara oral dengan dosis 0,0078 g / 20 gBB dalam pembawa larutan CMC-Na 0,5%.
4. Kelompok 4 : diberi sediaan herba pegagan secara oral dengan dosis 0,0702 g /20 gBB dengan pembawa larutan CMC-Na 0,5%.
5. Kelompok 5 : diberi kombinasi kaliks rosela dan herba pegagan secara oral dengan perbandingan 1 : 9 dengan dosis 0,0078 g rosela / 20 gBB mencit dan 0,0702 g pegagan / 20 gBB mencit dalam pembawa larutan CMC-Na 0,5%.
6. Kelompok 6 : diberi kombinasi kaliks rosela dan herba pegagan secara oral dengan perbandingan 1 : 9 dengan dosis 0,0156 g g rosela / 20 gBB mencit dan 0,1404 g pegagan / 20 gBB dalam pembawa larutan CMC-Na 0,5%.
7. Kelompok 7 : diberi diberi kombinasi kaliks rosela dan herba pegagan secara oral dengan perbandingan 1 : 9 dengan dosis 0,0312 g g rosela/ 20 gBB mencit dan 0,2808 g pegagan / 20 gBB dalam pembawa larutan CMC-Na 0,5%.

b. Uji Bersihan Karbon (Hudson, 1976)

Hewan coba diberikan sediaan uji sesuai dengan kelompoknya selama tujuh hari berturut-turut. Pengujian kecepatan bersihan karbon dilakukan pada hari terakhir setelah 30 menit pemberian sediaan uji terakhir.

Suspensi karbon dalam uji bersihan karbon diinjeksikan melalui vena ekor dari mencit yang telah dihangatkan sebelumnya.

Sebelum dilakukan injeksi suspensi karbon secara intravena, darah mencit diambil terlebih dahulu melalui vena ekor. Darah ini dijadikan pembanding pada pengukuran transmittan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Setelah dilakukan pengambilan darah, suspensi karbon diinjeksikan melalui vena ekor mencit. Darah dari mencit diambil pertama kali dengan melukai ekor mencit segera setelah mata mencit berwarna biru kehitaman. Waktu pengambilan pertama ini dihitung sebagai $t = 0$. Selanjutnya darah diambil secara periodik pada menit ke 3, 6, 9, 12, 15, 30, 45. Darah yang diambil diletakan pada plat tetes yang telah diberikan heparin.

Darah yang diperoleh dipipet sebanyak 20 μ l menggunakan pipet mikro lalu dilisis pada larutan asam asetat glasial 1% sebanyak 4 ml. Darah yang telah

dilisis diukur transmittan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm.

c. Analisis Data

Transmittan darah diplotkan dalam kurva dengan nilai ordinat merupakan nilai 100-% Transmittan sedangkan nilai absis merupakan waktu pasca penyuntikan suspensi karbon. Nilai K diperoleh dari kemiringan kurva lalu dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak SPSS 15.0 dan diukur indeks fagositosis dengan membandingkan nilai K kelompok sediaan uji dengan kelompok kontrol. Analisis statistik yang dilakukan pada K adalah analisis *Saphiro-Wilk* untuk melihat normalitas data dan analisis ANOVA satu arah untuk melihat homogenitas serta perbedaan antara data.

Analisis dengan indeks fagositosis dilakukan dengan membagi nilai K pada masing-masing kelompok uji dengan kelompok kontrol. Kriteria dari penilaian imunostimulan adalah bila perbandingan bernilai antara 1 hingga 1,2 maka sediaan tidak memiliki aktivitas imunostimulan. Bila perbandingan bernilai antara 1,3-1,5 maka sediaan memiliki aktivitas imunostimulan sedang. Bila perbandingan bernilai lebih dari 1,5 maka sediaan merupakan imunostimulan kuat (Wagner & Jurcic, 1991).

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman diperlukan untuk mengetahui nama tanaman yang tepat. Hasil dari determinasi tanaman yang akan digunakan adalah *Centella asiatica* dan *Hibiscus sabdariffa*. Hasil dari determinasi tanaman dapat dilihat pada lampiran 4.1.

4.2. Penyiapan simplisia uji

Simplisia kering diblender hingga diperoleh serbuk kasar. Kemudian serbuk kasar diayak dengan ayakan B30 untuk memisahkan serbuk simplisia dari serbuk yang terlalu halus. Serbuk yang diperoleh disimpan dalam wadah kering tertutup rapat.

Simplisia rosela dan pegagan dibuat menjadi serbuk dengan tujuan agar permukaan simplisia yang terbasahi air menjadi lebih luas sehingga ekstrak yang dapat disari dengan air lebih banyak dan proses ekstraksi menjadi lebih optimal. Digunakan serbuk kasar untuk menyesuaikan dengan sediaan teh pada umumnya.

4.3. Keadaan Umum Mencit

Mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan dari galur ddY. Pada penelitian ini hanya digunakan mencit jantan karena uji aktivitas imunostimulan tidak dipengaruhi oleh hormon seks.

Mencit putih yang akan digunakan sebelumnya diaklimatisasi selama satu minggu untuk membiasakan mencit dengan kondisi percobaan. Mencit dikelompokkan berdasarkan kelompok percobaannya dan diberi makanan serta minuman secukupnya.

Mencit-mencit yang akan digunakan dipilih mencit sehat yang beratnya berkisar antara 20 gram hingga 30 gram, pergerakannya aktif, bulunya tidak berdiri. Mencit-mencit yang tidak memenuhi syarat dikeluarkan dari percobaan. Daftar berat badan mencit pada awal masa percobaan dan akhir masa percobaan dapat dilihat pada Tabel 4.1

Untuk penandaan, setiap mencit ditandai dengan asam pikrat karena asam pikrat memberikan warna yang tahan lama, tidak luntur apabila terbasahi air serta tidak menimbulkan kerontokan pada bulu mencit.

Hingga akhir hari percobaan, tidak ada mencit yang menunjukkan tanda-tanda sakit. Semua mencit bergerak aktif, berat badannya bertambah serta bulu mencit tidak berdiri.

4.4. Pembuatan sediaan uji

Untuk membuat sediaan teh kombinasi, simplisia yang telah diserbuk dimasukkan ke dalam kantung teh sebanyak 0,3 gram kaliks rosela sebesar dan 2,7 gram herba pegagan sehingga diperoleh berat total teh adalah 3 gram lalu diseduh dengan menggunakan akuades panas dengan suhu 80⁰C. Teh dibiarkan selama lima menit agar kandungan simplisia cukup tersari dalam akuades. Kondisi ini dibuat mirip dengan kondisi yang umumnya terjadi di masyarakat.

Sediaan teh yang dibuat kemudian dikeringkan dengan menggunakan penangas air. Setelah teh kering, teh disuspensikan dalam pembawa larutan CMC-Na 0,5%. Hal ini dilakukan karena seluruh ekstrak tidak memiliki kelarutan yang baik dalam air. Digunakan konsentrasi 0,5% larutan CMC-Na karena pada konsentrasi ini ekstrak tersuspensi dengan baik dan sediaan uji masih dapat mengalir melalui alat sonde lambung. Sediaan uji yang diperoleh kemudian disimpan di dalam lemari es untuk mencegah timbulnya jamur pada sediaan. Pembuatan sediaan uji dilakukan setiap empat hari karena setelah empat hari sediaan rusak. Kerusakan sediaan ditandai dengan bau yang spesifik.

Zymosan® diberikan melalui injeksi intraperitoneal. Zymosan® yang telah ditimbang dilarutkan ke dalam larutan NaCl fisiologis 0,9% yang telah disterilkan menggunakan autoklaf selama 30 menit pada suhu 121⁰C. Larutan ini disimpan di dalam lemari es untuk menjaga stabilitasnya.

4.5. Pembuatan Suspensi Karbon

Suspensi karbon dibuat dengan cara mensuspensikan tinta pelikan (CII/1431, Gunther Wagner AG, Pelikan Werk) dalam larutan gelatin 1,6% dalam larutan NaCl fisiologis 0,9%. Untuk menjaga konsistensi, suspensi karbon

dipertahankan pada suhu 50⁰C dengan cara dipanaskan secara berkala pada penangas air.

4.6. Uji Bersihan Karbon

Uji bersihan karbon dilakukan untuk mengukur kapasitas fagositosis dari sistem retikuloendotelial hewan coba yang digambarkan pada kecepatan pembersihan karbon dari darah. Sistem retikuloendotelial merupakan gabungan dari leukosit, monosit dan makrofag jaringan. Sel-sel pada sistem retikuloendotelial mampu memakan sel-sel asing dan mendegradasinya menggunakan enzim intraselular pada fagolisosom (Leskowitz & Benjamini, 1991).

Sebelum dilakukan uji bersihan karbon, masing-masing hewan coba diberikan perlakuan selama tujuh hari. Hal ini dilakukan agar masing-masing sediaan memberikan efek menstimulasi sistem imun. Pada hari terakhir, setelah 30 menit pemberian perlakuan, mencit disuntik suspensi karbon sebagai antigen.

Sebelum menjit diinjeksi dengan suspensi karbon, darah dari mencit diambil terlebih dahulu. Darah ini yang akan digunakan sebagai pembanding pada penetapan transmittan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Suspensi karbon disuntikan secara intravena agar partikel karbon langsung masuk ke dalam peredaran darah dan difagositosis oleh makrofag yang tergabung dalam sistem retikuloendotelial. Pengambilan darah pertama kali dilakukan saat mata mencit telah menjadi biru yang merupakan tanda bahwa suspensi karbon telah menyebar ke dalam peredaran darah. Waktu pengambilan pertama kali ini dianggap sebagai $t=0$. Selanjutnya darah diambil secara berkala pada menit ke 3, 6, 9, 12, 15, 30 dan 45. Nilai transmittan dari darah dapat dilihat pada Tabel 4.2

Mencit pada kelompok Zymosan[®], pegagan dan dosis 3 setelah pengambilan darah ke-45 masih terlihat normal. Pergerakan mencit masih aktif. Namun, mencit pada kelompok CMC-Na terlihat tidak normal. Pergerakan mencit jadi lambat dan bulu mencit berdiri. Hal ini mungkin diakibatkan masih cukup banyak suspensi karbon yang belum difagositosis.

Darah yang masih mengandung karbon berwarna kebiruan. Sedangkan darah yang tidak mengandung karbon berwarna merah segar sehingga transmittan

dari darah yang mengandung karbon, kecil bila diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan blanko yang digunakan adalah darah sebelum injeksi suspensi karbon.

4.7. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa nilai transmittansi dari darah hewan coba. Transmittansi ini kemudian dibuat dalam kurva 100-%T berbanding dengan waktu. Kemiringan dari kurva merupakan kecepatan bersihan karbon oleh makrofag.

Analisis data dilakukan dengan dua metode, pertama dilakukan dengan membandingkan kecepatan bersihan karbon masing-masing sediaan uji dengan kecepatan bersihan karbon kontrol CMC-Na untuk diperoleh indeks fagositosis. Bila indeks fagositosis 1,0-1,2, sediaan uji tidak memiliki efek imunostimulan. Bila indeks fagositosis memiliki nilai 1,3-1,5 sediaan uji memiliki aktivitas imunostimulan sedang. Bila indeks fagositosis memiliki nilai lebih besar dari 1,5 sediaan uji memiliki aktivitas imunostimulan yang kuat.

Indeks fagositosis dari rata-rata perkelompok memberikan hasil bahwa sediaan teh kombinasi rosela dan pegagan pada dosis 3 memberikan aktivitas maksimum. Aktivitas ini lebih besar daripada aktivitas imunostimulan sediaan teh pegagan dan rosela yang tidak dikombinasi. Sediaan dosis 3 juga memiliki aktivitas imunostimulan yang lebih besar daripada Zymosan®. Nilai indeks fagositosis dari mencit yang diberikan dosis 3 adalah 1,665 sedangkan indeks fagositosis dari mencit yang diberikan Zymosan® adalah 1,613.

Tidak seperti dosis 3, dosis 2 hanya memberikan aktivitas imunostimulan yang sedang. Indeks fagositosis dari kelompok dosis 2 adalah 1,416. Sesuai dengan kriteria imunostimulan, indeks fagositosis tersebut termasuk dalam kelompok imunostimulan sedang (Wagner & Jurcic, 1991). Begitu juga dengan kelompok rosela, meskipun memiliki aktivitas imunostimulan, aktivitas yang dimiliki merupakan aktivitas imunostimulan sedang dengan indeks fagositosis kelompok rosela adalah 1,314. Sediaan dengan dosis 1 tidak memiliki aktivitas imunostimulan dengan nilai indeks fagositosis lebih kecil dari 1,3 yaitu sebesar 1,209. Perbandingan indeks fagositosis masing-masing kelompok uji dengan kelompok kontrol dapat dilihat pada Tabel 4.5. Daftar kecepatan bersihan karbon

dan indeks fagositosis masing-masing mencit dapat dilihat pada Tabel 4.4. Grafik kecepatan bersihan karbon dapat dilihat pada Gambar 4.1 – Gambar 4.5.

Analisa statistik dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak SPSS 15.0. Data yang diperoleh diuji normalitasnya dengan uji *Saphiro-Wilk*. Hasil yang diperoleh adalah persebaran normal untuk data dari seluruh kelompok yang ditandai dengan nilai signifikansi dari seluruh kelompok lebih besar dari 0,05. Hasil analisa dengan Saphiro-Wilk dapat dilihat pada lampiran 4.2.

Analisa dilanjutkan dengan uji ANOVA untuk melihat adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok. Bila dibandingkan dengan kontrol, sediaan Zymosan®, Rosela, Pegagan, Dosis 1, Dosis 2 dan Dosis 3 memiliki perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan yang diujikan memiliki aktivitas imunostimulan.

Bila dibandingkan dengan Zymosan®, hanya dosis 3 yang memiliki aktivitas imunostimulan yang lebih kuat daripada Zymosan®, meskipun perbedaan aktivitasnya tidak signifikan yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi sebesar 0,19675. Hasil analisa ANOVA satu arah dapat dilihat pada lampiran 4.4.

BAB 5 KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Sediaan dengan dosis 3 (0,0312 g rosela / 20g BB mencit dan 0,2808 g pegagan / 20g BB mencit) memiliki aktivitas imunostimulan maksimum dengan indeks fagositosis 1,665. Sediaan teh kombinasi dosis 2 (0,0156 g rosela / 20g BB mencit dan 0,1404 g pegagan / 20g BB mencit) memberikan aktivitas imunostimulan sedang dengan indeks fagositosis 1,416. Sediaan teh kombinasi pada dosis 1 (0,0078 g rosela / 20g BB mencit dan 0,0702 g pegagan / 20g BB mencit) tidak memiliki aktivitas imunostimulan dengan indeks fagositosis 1,209. Aktivitas imunostimulan yang dimiliki oleh sediaan dengan dosis 3 lebih besar daripada Zymosan®, sediaan teh rosela dan pegagan masing-masing dengan indeks fagositosis berturut-turut adalah 1,613 ; 1,295 dan 1,546.

5.2 Saran

Uji aktivitas imunostimulan yang dilakukan kali ini hanya untuk melihat respon imun non spesifik dari sediaan uji. Sebaiknya penelitian ini dilanjutkan untuk melihat respon imun spesifik dari sediaan uji.

DAFTAR ACUAN

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pober, J. s. (1994). *Cellular and Molecular Immunology* 2nd Edition. Philadelphia: WB Saunders Co.
- Bellanti, J. A. (1993). *Imunologi III*. (A. S. Wahab, Trans.) Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Bendich, A. 1992. Symposium: Antioxidants, Immune response, and animal function. *J Dairy Science*, 76, 2789-2794.
- Blamey, R. W., Crosby, D. L., & Jane, B. M. (1969). Reticuloendothelial Activity during the Growth of Rat Sarcomas. *Cancer Research* , 29, 335-337.
- Bratawidjaja, K. G. (2002). Imunomodulasi. In *Imunologi Dasar* (pp. 327-390). Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1989). *Vademekum Bahan Obat Alam*. Jakarta : Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan
- Elgert, K. D. (1996). *Immunology*. New York: Willey-Liss.
- Fakeye, T. O., et al. (2008). Immunomodulatory effect of Extract *Hibiscus sabdariffa L.* in a Mouse Model. *Phytoter Press* , 664-668.
- Ghule, B., Murugananthan, G., Nakhat, P., & Yoele, P. (2006). Immunostimulant effects of *Capparis zeylanica* Linn. leaves. *J of Ethnopharmacol* , 311-315.
- Griffin, JFT. (1986). Stress and Imunity : a Unifying Concept. *Vet. Immunol and Immunopatho* , 263-312
- Hanafiah, K. A. (2001). *Rancangan Percobaan : Teori dan Aplikasi*. Jakarta: Raja Grafindo.
- Hargono, D., (April, 1996). Sekelumit Mengenai Obat Nabati Dalam Sistim Imunitas. *Cermin Dunia Kedokteran*, pp. 5-9
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Hudson, L. (1976). *Practical Immunology* 2nd edition. London: Blackwell Scientific Publication.

- Indrata, F. (2009). *Upaya Pembuatan Teh dari Bunga Rosela (Hibiscus sabdariffa) dan Pegagan (Centella asiatica) sebagai Sediaan Antioksidan*. Departemen Farmasi Universitas Indonesia.
- Jones, S & Luchsinger, A. (1987). *Plant Systematic* 2nd Ed. New York : McGraw-Hill Book Co.
- Kaklamani, E., Karalis, D., & Koumanki, Y. (1993). The effect of *Mycoplasma arthritidis* infection on. *FEMS Immunol Med Microbiol* , 299-306.
- Kuby, J. (1992). *Immunology*. New York: WH Freeman and Company.
- Laurence, D. R., & Bacharach, A. L. (1964). *Evaluation of Drug Activities*. London: Academic Press.
- Leskowitz, S., & Benjamini, E. (1991). *Immunology : A Short Course* (2nd ed.). New York: Willey-Liss.
- Mahadevan, N., Shivali & Kamboj, P. (2009). *Hibiscus sabdariffa : An Overview*. *Nat'l Pro. Radiance*. 77-83
- Medicinal Herb Index* 2nd edition. (1995). PT Eisai Indonesia.
- Nurkhasanah. (2006). Bahan Obat Alam Sumber Pendapatan Pembangunan. *Prosiding Persidangan Antarbangsa Pembangunan Aceh*. Jakarta.
- Prosea 12. (1999). *Plant Resources of South Asia 12*. Bogor : Prosea Fondation
- Punturee, K., et al. (2005). Immunomodulatory Activites of *Centella asiatica* and *Richanthus nasutus* Extract. *Asian Pasific J Cancer Prevent* , 395-400.
- Puri, A. (1994). Immunostimulant activity of *Nycanthes arbor-tristis* L. *J of Etnopharmacol* , 32-37.
- Roitt. (2001). *Immunology* 6th Ed. New York: Mosby.
- Sharma, M., Atal, C., Kaul, A., & Khajuria, A. (1986). Immunomodulating Agents of Plant Origin I : Preliminary Screening. *J. of Etnopharmacol* , 133-141.
- Shetty, Nandini. (2005). *Immunology Introductory*. New Delhi : New Age International Publisher Ltd.
- Shukla, S., Mehta, A., & John, J. (2009). Immunomodulatory activities of the ethanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*. *J of Etnophamarcol* , 252-256.
- Standar of Asean Herba Medicine* (Vol. I). (1993). Jakarta: Asean Countries.

- Sugandi,E & Sugianto. (1994). *Rancangan Percobaan* (1st Ed). Yogyakarta : Penerbit Andi Offset
- Sumanth, M., & Mustafa, S. (2007). Antistress, Adoptogenic and Immunopotentiating Activity Roots of *Boarhaavia diffusa* in Mice. *Int'l J of Pharmacol* , 416-420.
- Tang, W., Eisenbrand, G. (1992). *Chinese Drug of Plant Origin*. Berlin : Springer-Verlag.
- The Merck Index* 9th Ed. (1976). USA : Merck and Co., Inc.
- Tiwari, Sushma et al.. (2008). Effect of *Centella asiatica* on Mild Cognitive Impairment (MCI) and Other Common Age-Related Clinical Problems. *Digest J. of Nanomaterials and Biostructures*, 215-220.
- Wagner, H., Kraus S and Jurcic K (1999), Search for Potent Immunostimulating Agents from Plants and Other Natural Sources, in *Immumodulatroy Agents From Plants*, Wagner H, Editor, Birkhauser, 1-33.
- Wagner, H., & Jurcic, K. (1991). Assay for Immunomodulation and Effects on Mediators of Inflammation. In Hostettmann (Ed.), *Method in Plant Biochemistry* (pp. 201-202). New York: Academic Press.
- Wannarat, K. (2009). Wound Healing Effect on Standardized Extract *Centella asiatica* on Burn Wound in Rats. *Thai J Pharmacol* , 120-124.





Gambar 2.2 Tanaman *C. asiatica*



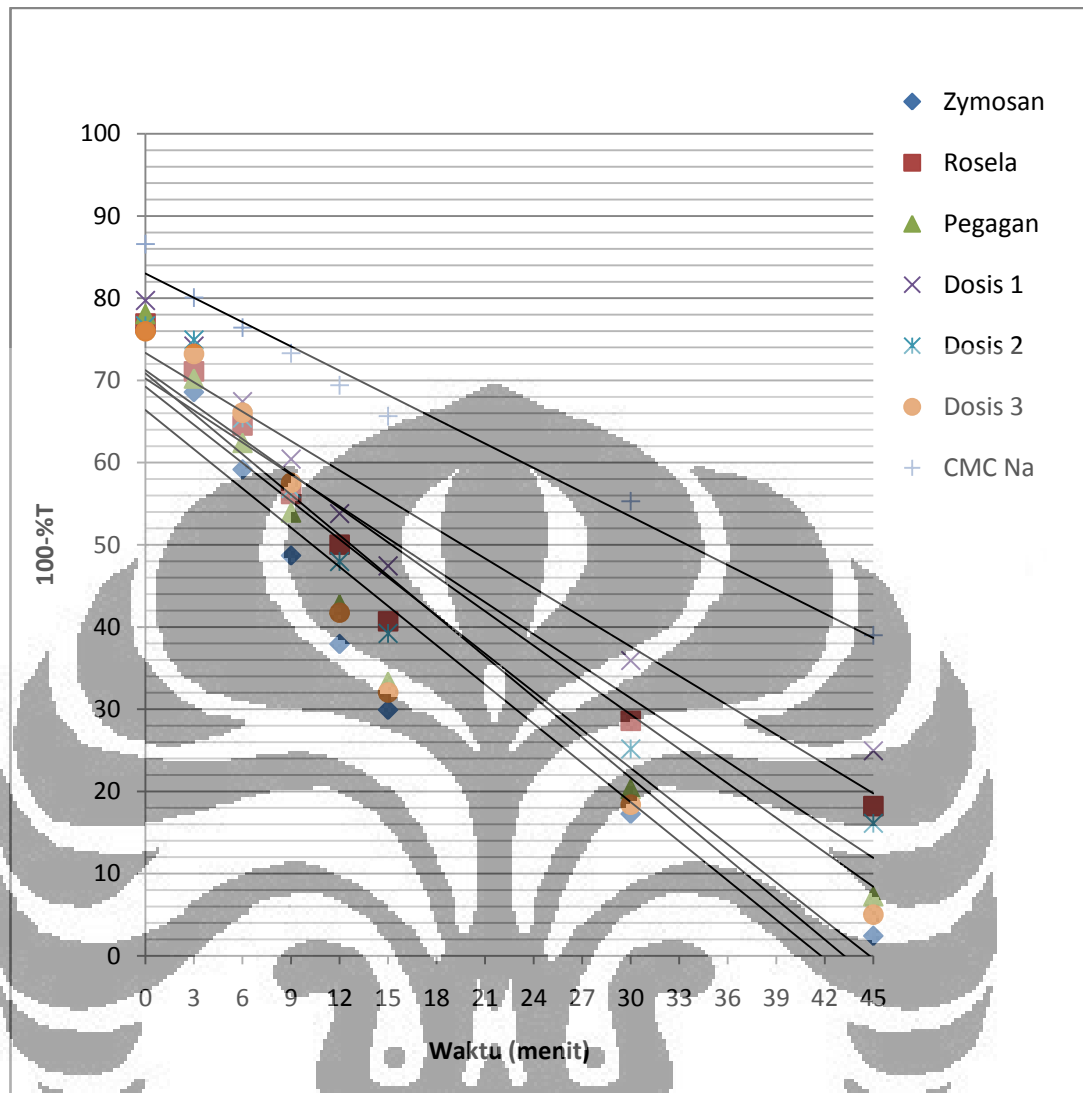
Gambar 2.3 Tanaman *H. subdariffa*



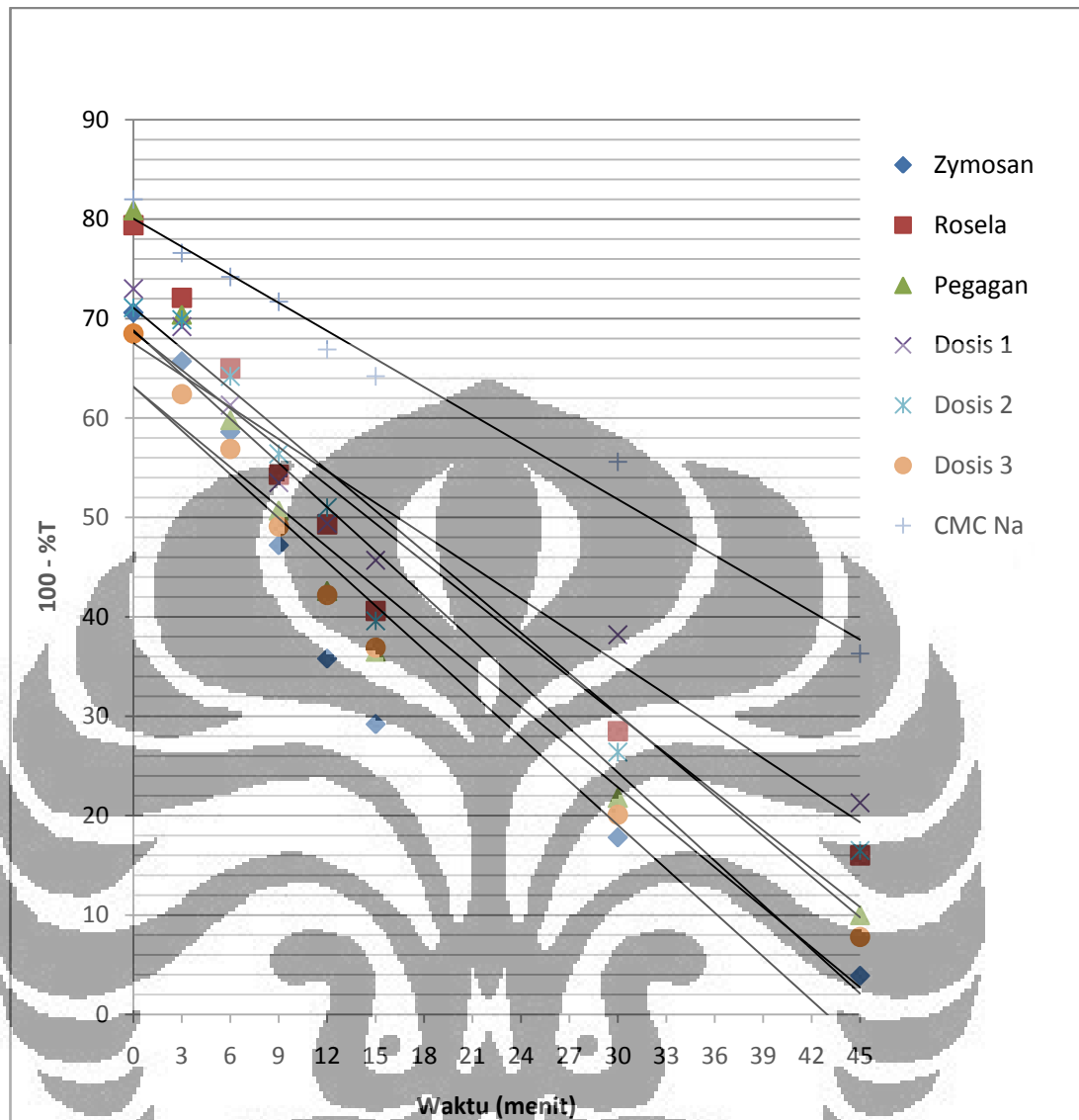
Gambar 2.4 Simplisia *C. asiatica*



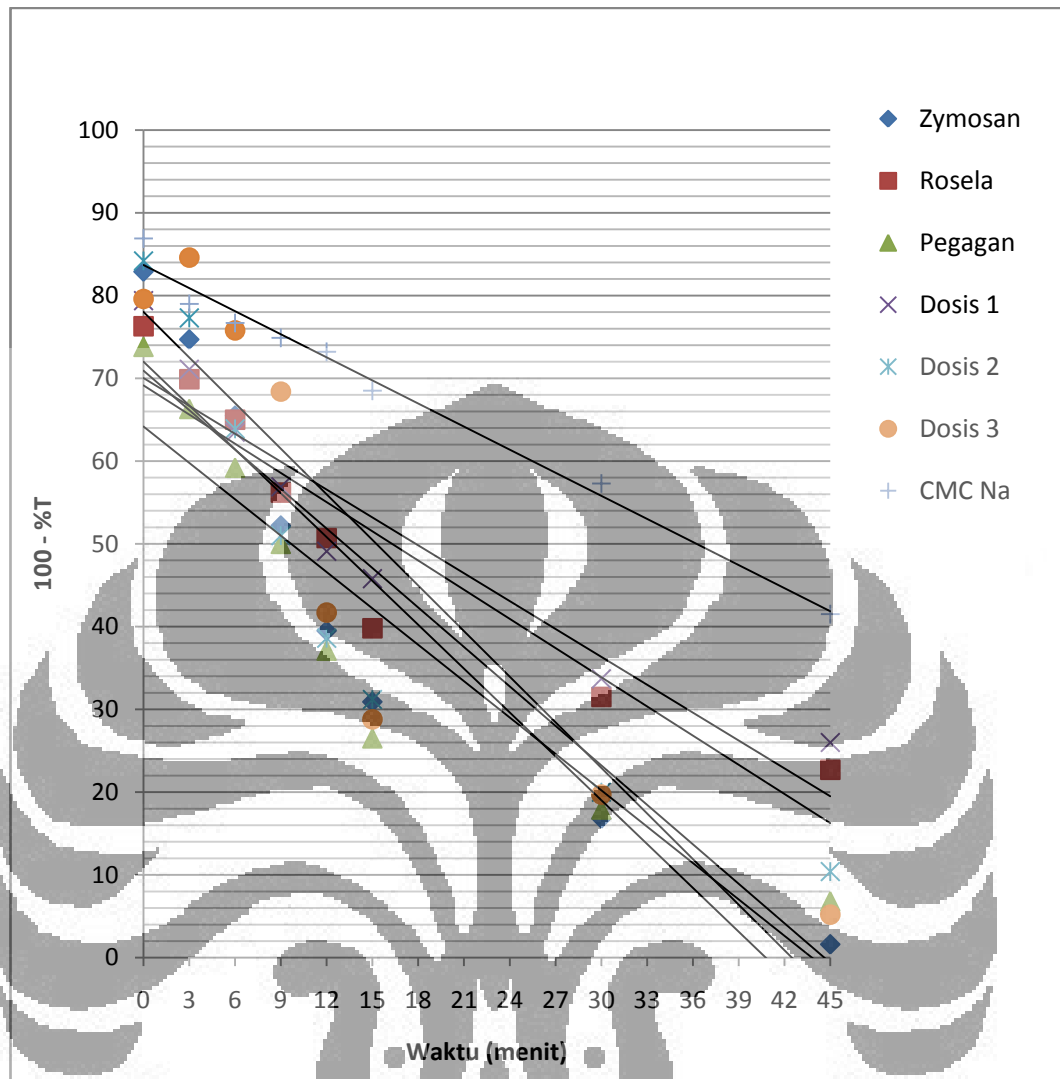
Gambar 2.5 Simplisia *H. sabdariffa*



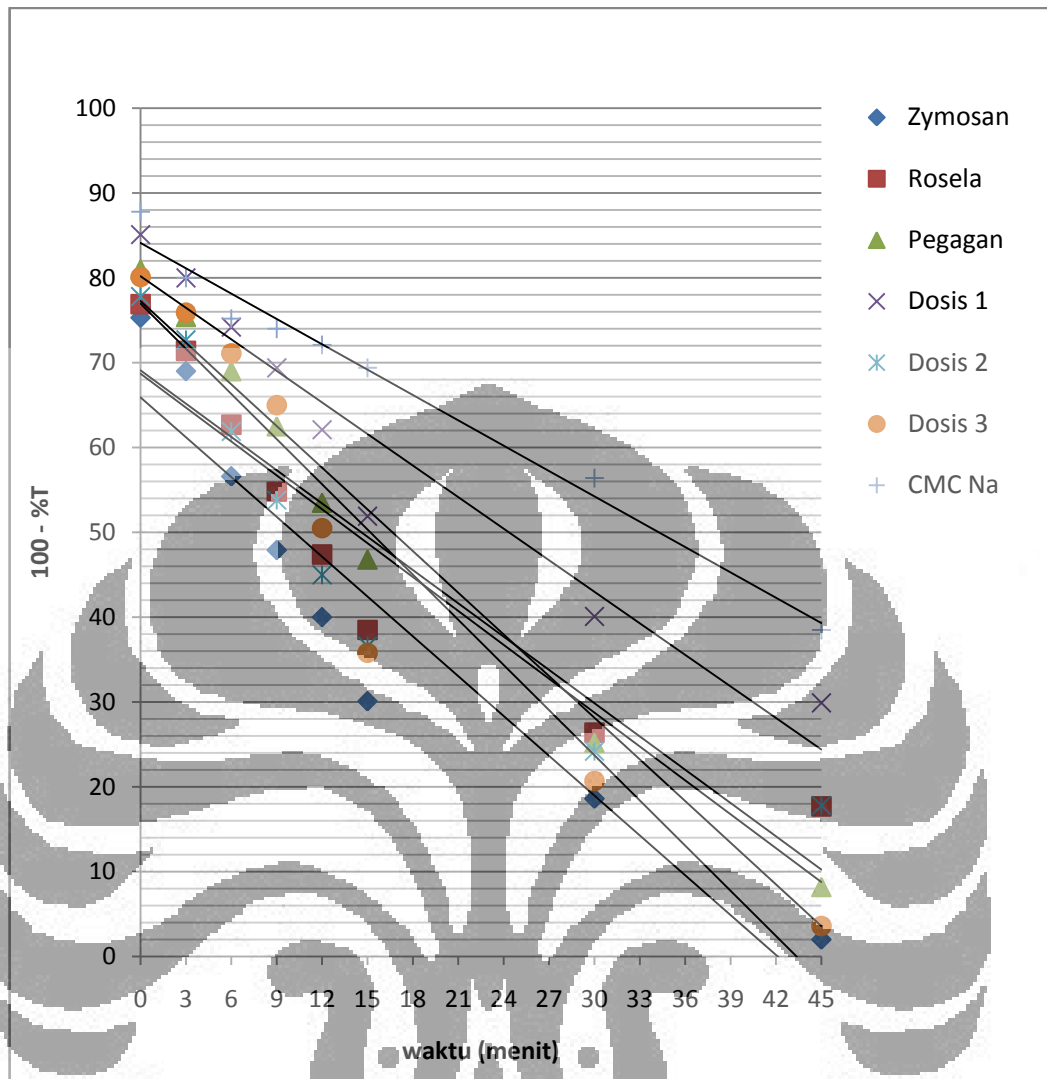
Gambar 4.1. Kecepatan pembersihan partikel karbon pada mencit yang telah diinjeksi suspensi karbon secara intravena. Nilai kecepatan bersihan karbon merupakan nilai kemiringan pada Gambar



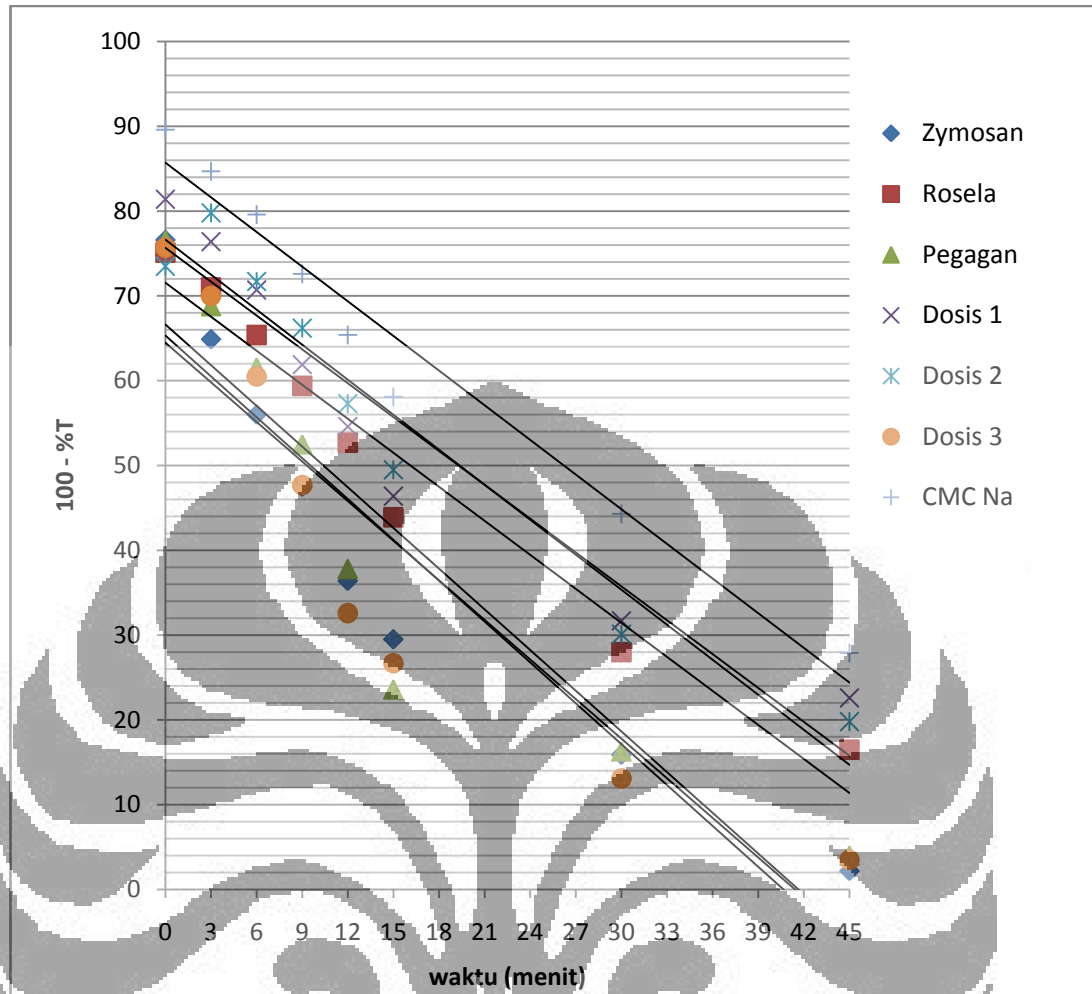
Gambar 4.2. Kecepatan pembersihan partikel karbon pada mencit yang telah diinjeksi suspensi karbon secara intravena pada rangkaian pertama. Nilai kecepatan bersihan karbon merupakan nilai kemiringan pada Gambar



Gambar 4.3 Kecepatan pembersihan partikel karbon pada mencit yang telah diinjeksi suspensi karbon secara intravena pada rangkaian kedua. Nilai kecepatan bersihan karbon merupakan nilai kemiringan pada Gambar.



Gambar 4.4 Kecepatan pembersihan partikel karbon pada mencit yang telah diinjeksi suspensi karbon secara intravena pada rangkaian ketiga. Nilai kecepatan bersihan karbon merupakan nilai kemiringan pada Gambar.



Gambar 4.5. Kecepatan pembersihan partikel karbon pada mencit yang telah diinjeksi suspensi karbon secara intravena pada rangkaian keempat. Nilai kecepatan bersihan karbon merupakan nilai kemiringan pada Gambar.

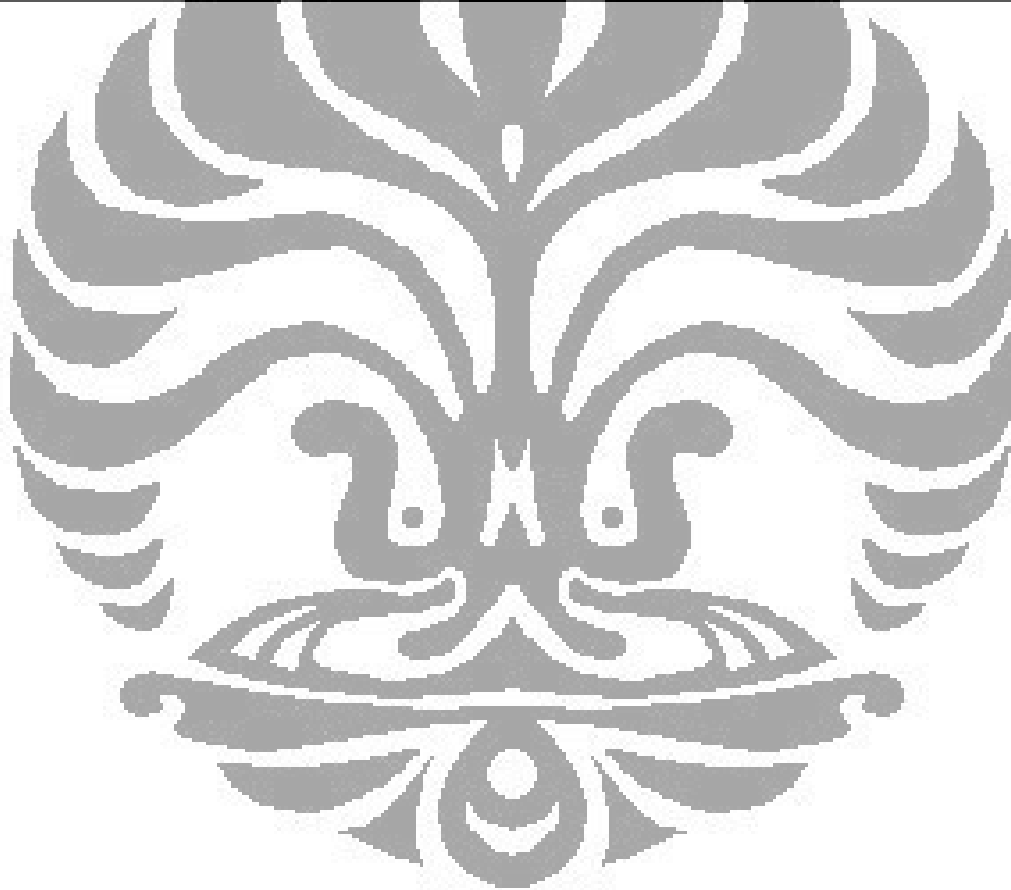


Tabel 3.1 Pembagian Kelompok Uji

Kelompok	n (Mencit)	Perlakuan
Kontrol Positif	4	Zymosan dengan dosis 10 mg/kgBB secara intraperitoneal dan Suspensi CMC-Na 0,5% secara oral
Kontrol Pembawa	4	CMC-Na 0,5% secara oral
Rosela	4	Suspensi teh rosela dalam CMC 0,5% dosis 0,0078/20 g BB mencit
Pegagan	4	Suspensi teh pegagan dalam CMC 0,5% dosis 0,0702/20 g BB mencit
Dosis I	4	Suspensi teh kombinasi kaliks rosela dan herba pegagan (1:9) dalam CMC 0,5% dosis 0,0078 g rosela / 20 g BB mencit dan 0,0702 pegagan g/20 g BB mencit
Dosis II	4	Suspensi teh kombinasi kaliks rosela dan herba pegagan (1:9) dalam CMC 0,5% dosis 0,0156 g rosela / 20 g BB mencit dan 0,1404 g pegagan /20 g BB mencit
Dosis III	4	Suspensi teh kombinasi kaliks rosela dan herba pegagan (1:9) dalam CMC 0,5% dosis 0,0312 g rosela / 20 g BB mencit dan 0,2808 g pegagan /20 g BB mencit

Tabel 4.1 Daftar Berat Badan Mencit Pada masa Awal dan Akhir Percobaan

Sediaan Uji	Kelompok							
	1		2		3		4	
	BB Awal (gr)	BB Akhir (gr)	BB Awal (gr)	BB Akhir (gr)	BB Awal (gr)	BB Akhir (gr)	BB Awal (gr)	BB Akhir (gr)
Zymosan	25,1	27,8	23,1	25,9	29,7	31,3	19,7	20,0
Rosela	29,9	30,9	20,3	23,5	26,3	25,8	24,5	28,1
Pegagan	18,5	17,2	23,9	30,5	23,4	29,2	18,9	18,8
Dosis 1	29,5	29,0	22,2	28,3	27,9	28,2	21,0	28,1
Dosis 2	28,1	32,4	26,1	34,7	24,3	28,3	23,1	25,6
Dosis 3	30,5	35,1	21,0	23,9	32,5	36,8	19,2	20,5
CMC-Na	26,2	29,3	23,8	27,3	24,7	29,0	27,3	32,6

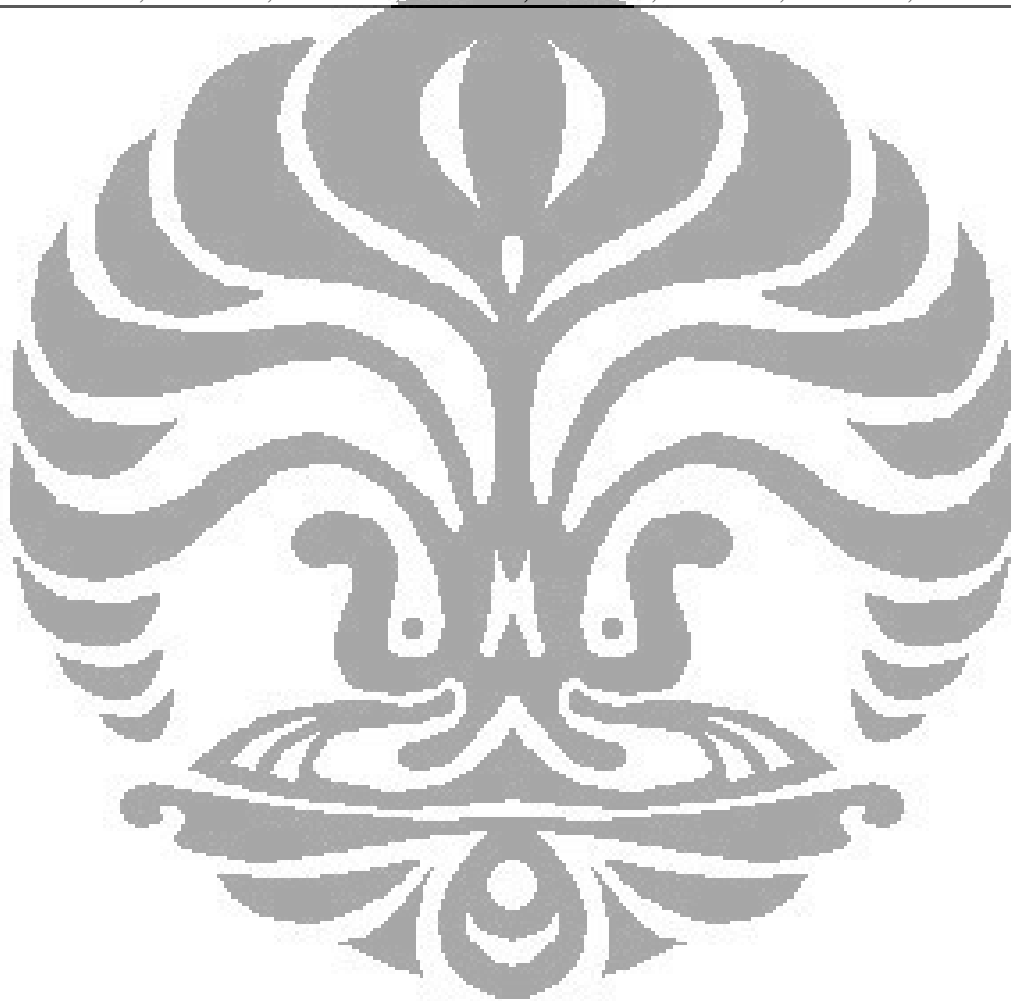


Tabel 4.2. Nilai Transmitan Darah

Sediaan Uji	Waktu (menit)							
	0	3	6	9	12	15	30	45
Zymosan	29,4	34,3	41,4	52,8	64,2	70,8	82,2	96,1
Rosela	20,6	27,9	35,0	45,7	50,7	59,4	71,5	84,0
Pegagan	19,1	29,6	40,2	49,3	57,4	63,5	78,2	90,0
Dosis 1	27,0	30,8	38,7	46,5	50,6	54,3	61,8	78,7
Dosis 2	28,9	30,1	35,8	43,6	49,0	60,4	73,6	83,5
Dosis 3	31,5	37,6	43,1	50,9	57,8	63,1	79,9	92,2
CMC-Na	18,0	23,4	25,8	28,3	33,1	35,8	44,4	63,7
Zymosan	17,1	25,3	34,5	47,8	60,5	69,1	83,2	98,4
Rosela	23,7	30,1	35,0	43,8	49,3	60,2	68,5	77,3
Pegagan	26,2	33,7	40,8	50,0	62,9	73,5	82,1	93,2
Dosis 1	20,6	28,9	36,5	43,1	50,9	54,2	66,3	74,0
Dosis 2	15,8	22,7	36,1	49,0	61,4	68,8	80,0	89,6
Dosis 3	20,4	15,4	24,2	31,6	58,3	71,2	80,3	94,8
CMC-Na	13,1	21,0	23,3	25,1	26,8	31,5	42,7	58,5
Zymosan	24,7	31,0	43,4	52,1	60,0	69,9	81,4	98,0
Rosela	23,1	28,6	37,3	45,2	52,6	61,5	73,6	82,3
Pegagan	19,0	24,6	31,0	37,5	46,5	53,2	74,8	91,8
Dosis 1	14,9	20,0	25,8	30,6	37,9	48,1	59,9	70,1
Dosis 2	22,2	27,3	38,1	46,2	55,0	63,4	75,8	82,2
Dosis 3	19,9	24,1	28,9	35,0	49,5	64,2	79,3	96,4
CMC-Na	12,2	20,0	24,8	26,0	27,9	30,6	43,6	61,5
Zymosan	23,4	35,1	44,0	52,5	63,6	70,5	84,1	97,8
Rosela	24,9	29,0	34,6	40,6	47,3	56,1	72,0	83,5
Pegagan	23,5	31,2	38,4	47,5	62,2	76,4	83,7	96,0
Dosis 1	18,6	23,6	29,3	38,1	45,4	53,6	68,3	77,4
Dosis 2	26,5	20,2	28,3	33,8	42,7	50,5	69,9	80,2
Dosis 3	24,3	30,0	39,5	52,3	67,4	73,3	86,9	96,5
CMC-Na	10,4	15,3	20,4	27,4	34,6	39,5	48,1	60,3

Tabel 4.3. Rata-rata Nilai 100-% T

Sediaan Uji	Waktu (menit)							
	0	3	6	9	12	15	30	45
Zymosan	76,35	68,57	59,17	48,70	37,92	29,92	17,27	2,42
Rosela	76,92	71,10	64,52	56,17	50,02	40,70	28,60	18,22
Pegagan	78,05	70,22	62,40	53,92	42,75	33,35	20,30	7,25
Dosis 1	79,72	74,17	67,42	60,42	53,80	47,45	35,92	24,95
Dosis 2	76,65	74,92	65,42	56,85	47,97	39,22	25,17	16,12
Dosis 3	75,97	73,22	66,07	57,55	41,75	32,05	18,40	5,03
CMC-Na	86,57	80,07	76,42	73,30	69,40	65,65	55,30	39,0



Tabel 4.4 Kecepatan Bersihan Karbon dan Nilai Indeks Fagositosis masing-masing kelompok

Rangkaian	Kelompok	Persamaan regresi	K	Indeks Fagositosis
1	Zymosan	$y = -1,47x + 63,15$	1,470	1,562
	Rosela	$y = -1,362x + 71,08$	1,362	1,447
	Pegagan	$y = -1,482x + 68,82$	1,482	1,575
	Dosis 1	$y = -1,070x + 67,50$	1,070	1,137
	Dosis 2	$y = -1,286x + 68,67$	1,286	1,367
	Dosis 3	$y = -1,342x + 63,11$	1,342	1,426
	CMC-Na	$y = -0,941x + 80,05$	0,941	1,000
2	Zymosan	$y = -1,766x + 72,00$	1,766	1,901
	Rosela	$y = -1,122x + 70,02$	1,122	1,208
	Pegagan	$y = -1,465x + 64,18$	1,465	1,577
	Dosis 1	$y = -1,175x + 69,14$	1,175	1,265
	Dosis 2	$y = -1,589x + 70,92$	1,589	1,710
	Dosis 3	$y = -1,836x + 78,02$	1,836	1,976
	CMC-Na	$y = -0,929x + 83,69$	0,929	1,000
3	Zymosan	$y = -1,565x + 65,91$	1,565	1,573
	Rosela	$y = -1,307x + 69,09$	1,307	1,314
	Pegagan	$y = -1,637x + 77,25$	1,637	1,645
	Dosis 1	$y = -1,239x + 80,18$	1,239	1,245
	Dosis 2	$y = -1,331x + 68,7$	1,331	1,338
	Dosis 3	$y = -1,774x + 76,96$	1,774	1,783
	CMC-Na	$y = -0,995x + 84,11$	0,995	1,000
4	Zymosan	$y = -1,556x + 64,47$	1,556	1,142
	Rosela	$y = -1,337x + 71,56$	1,337	0,982
	Pegagan	$y = -1,599x + 66,63$	1,599	1,174
	Dosis 1	$y = -1,330x + 75,67$	1,330	0,977
	Dosis 2	$y = -1,375x + 76,62$	1,375	1,010
	Dosis 3	$y = -1,606x + 65,32$	1,606	1,179
	CMC-Na	$y = -1,362x + 85,71$	1,362	1,000

Tabel 4.5. Kecepatan Bersihan Karbon dan Nilai Indeks Fagositosis rata-rata

Kelompok	Persamaan Regresi	Kecepatan Bersihan Karbon	Indeks Fagositosis
Zymosan	$y = -1,589x + 66,38$	1,589	1,613
Rosela	$y = -1,295x + 70,22$	1,295	1,314
Pegagan	$y = -1,546x + 69,22$	1,546	1,569
Dosis 1	$y = -1,191x + 73,34$	1,191	1,209
Dosis 2	$y = -1,395x + 71,23$	1,395	1,416
Dosis 3	$y = -1,64x + 70,85$	1,640	1,665
CMC-Na	$y = -0,985x + 82,99$	0,985	1,000



Lampiran 3.1.

Perhitungan Dosis

Dibuat 200 ml sediaan teh dengan komposisi rosela dan pegagan sebesar 1:9. Teh yang dibuat sebanyak 3 gram. Dosis ini merupakan dosis sehari untuk teh pada manusia. Dosis dikonversikan menjadi dosis pada mencit dengan mengalikan dengan faktor konversi sebesar 0,0026 dan faktor farmakokinetika sebesar 10 sehingga diperoleh dosis rosela dan pegagan masing-masing sebesar :

$$\text{Dosis I rosela} = 0,3 \text{ g} \times 0,0026 \times 10 = 0,0078 \text{ g/ 20 gBB}$$

$$\text{Dosis I pegagan} = 2,7 \text{ g} \times 0,0026 \times 10 = 0,0702 \text{ g/ 20 gBB}$$

Dosis ini dikombinasikan untuk diperoleh sediaan teh kombinasi rosela dengan pegagan. Peningkatan dosis mengikuti pola 2^n sehingga diperoleh variasi dosis sebesar :

$$\text{Dosis I} : 0,0078 + 0,0702 \text{ g} = 0,0780 \text{ g/ 20 gBB}$$

$$\text{Dosis II } (2^1) : 2 (0,0078) \text{ g} + 2 (0,0702) \text{ g} = 0,0156 \text{ g} + 0,1404 \text{ g} = 0,156 \text{ g/ 20 gBB}$$

$$\text{Dosis III } (2^2) : 4 (0,0078) \text{ g} + 4 (0,0702) \text{ g} = 0,0312 \text{ g} + 0,2808 \text{ g} = 0,312 \text{ g/ 20 gBB}$$

Lampiran 3.2.

Pembuatan Sediaan Uji

Serbuk kering hasil pengeringan dengan penangas air disuspensikan dengan menggunakan larutan CMC-Na 0,5% untuk menjaga kestabilan sediaan uji yang akan disondekan. Sesuai dengan dosis manusia yang digunakan yaitu 200 ml dapat diperoleh volume yang diberikan kepada mencit yaitu :

$$\text{Dosis 1: } 200 \text{ ml} \times 0,0026 \times 10 = 5,2 \text{ ml}$$

$$\text{Dosis 2 : } 2 \times 5,2 \text{ ml} = 10,4 \text{ ml}$$

$$\text{Dosis 3 : } 4 \times 5,2 = 20,8 \text{ ml}$$

Dalam setiap kelompok terdapat 4 ekor mencit, sehingga volume teh yang diperlukan dalam satu kelompok adalah :

$$\text{Dosis III : } 4 \times 0,5 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$$

$$\text{Dosis II : } 2 \text{ ml} / 2 = 1 \text{ ml}$$

$$\text{Dosis I : } 1 \text{ ml} / 2 = 0,5 \text{ ml}$$

$$\text{Jumlah} = 3,5 \text{ ml}$$

Volume sediaan teh yang dibuat untuk 7 hari adalah:

$$3,5 \times 7 = 24,25 \text{ ml} \approx 40 \text{ ml}$$

Untuk menghitung jumlah simplisia yang dibutuhkan dilakukan perhitungan sebagai berikut :

$$\frac{20,8 \text{ ml}}{x \text{ ml}} = \frac{0,5 \text{ ml}}{40 \text{ ml}} \longrightarrow x = 1664 \text{ ml} \longrightarrow 166,4 \text{ g (16,64 g rosella + 149,76 g pegagan)}$$

Sediaan uji yang harus dipersiapkan lainnya adalah sediaan uji tunggal rosella dan pegagan. Volume sediaan uji yang dibutuhkan oleh satu kelompok selama tujuh hari adalah :

$$\text{Sediaan tunggal rosella} = 5,2 \text{ ml} \times 4 \times 7 = 145,6 \text{ ml}$$

$$\text{Sediaan tunggal pegagan} = 5,2 \text{ ml} \times 5 \times 7 = 145,6 \text{ ml}$$

Dari kebutuhan tersebut dibuat sediaan teh kombinasi sebanyak 2L dan sediaan teh rosella dan pegagan masing-masing sebanyak 200 ml.

Pembuatan teh kombinasi dilakukan dengan menyeduh 10 kantong teh yang masing-masing berisi 0,3 gram rosella dan 2,7 gram pegagan dalam akuades panas sebanyak 2L. Teh kemudian dikeringkan dengan menggunakan penangas

air sehingga diperoleh dosis 3. Untuk membuat dosis 2 dan dosis satu dilakukan pengenceran dari dosis 3 dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Dosis 3} = \frac{20,8 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}^*} = \frac{0,5 \text{ ml}}{40 \text{ ml}} \longrightarrow x = 24,03 \approx 24 \text{ ml}$$

$$\text{Dosis 2} = 24 \text{ ml} / 2 = 12 \text{ ml dicukupkan volumenya menjadi 24 ml dengan larutan CMC 0,5\%}.$$

$$\text{Dosis 3} = 24 \text{ ml} / 4 = 6 \text{ ml dicukupkan volumenya menjadi 24 ml dengan larutan CMC 0,5\%}.$$

* Pengenceran dilakukan per 1000 ml untuk menghindari kerusakan teh akibat terlalu lama disimpan.

Pembuatan sediaan tunggal rosela dan pegagan dilakukan dengan menyeduh masing-masing sebanyak 0,3 gram rosela dan 2,7 gram pegagan dalam akuades panas sebanyak 200 ml. Teh yang diperoleh dikeringkan lalu disuspensikan dalam larutan CMC-Na 0,5%. Berikut adalah perhitungan dari pengenceran teh rosela dan pegagan :

$$\text{Rosela} : \frac{5,2 \text{ ml}}{100 \text{ ml}^*} = \frac{0,5 \text{ ml}}{x \text{ ml}}, x = 9,61 \text{ ml} \approx 9,6 \text{ ml}$$

$$\text{Pegagan} : \frac{5,2 \text{ ml}}{100 \text{ ml}^*} = \frac{0,5 \text{ ml}}{x \text{ ml}}, x = 9,61 \text{ ml} \approx 9,6 \text{ ml}$$

* Pengenceran dilakukan per 100 ml untuk menghindari kerusakan teh akibat terlalu lama disimpan.

Dosis dari Zymosan adalah 10 mg / kgBB pada manusia. Untuk diperoleh dosis pada menceit, dosis ini dikalikan dengan faktor konversi dan faktor farmakokinetik. Berikut ini adalah perhitungan dari dosis Zymosan :

$$\text{Zymosan} = 10 \text{ mg/kg BB} \times 0,0052 \times 10 = 0,52 \text{ mg/20 gBB menceit}.$$

$$\text{Zymosan untuk 4 menceit selama 7 hari} = 0,52 \text{ mg} \times 7 \times 4 = 14,56 \text{ mg}$$

$$\text{Zymosan akan diberikan secara intraperitoneal dengan volume 0,1 ml}.$$

Zymosan dilarutkan di dalam larutan fisiologis NaCl 0,9% yang telah disterilisasi.

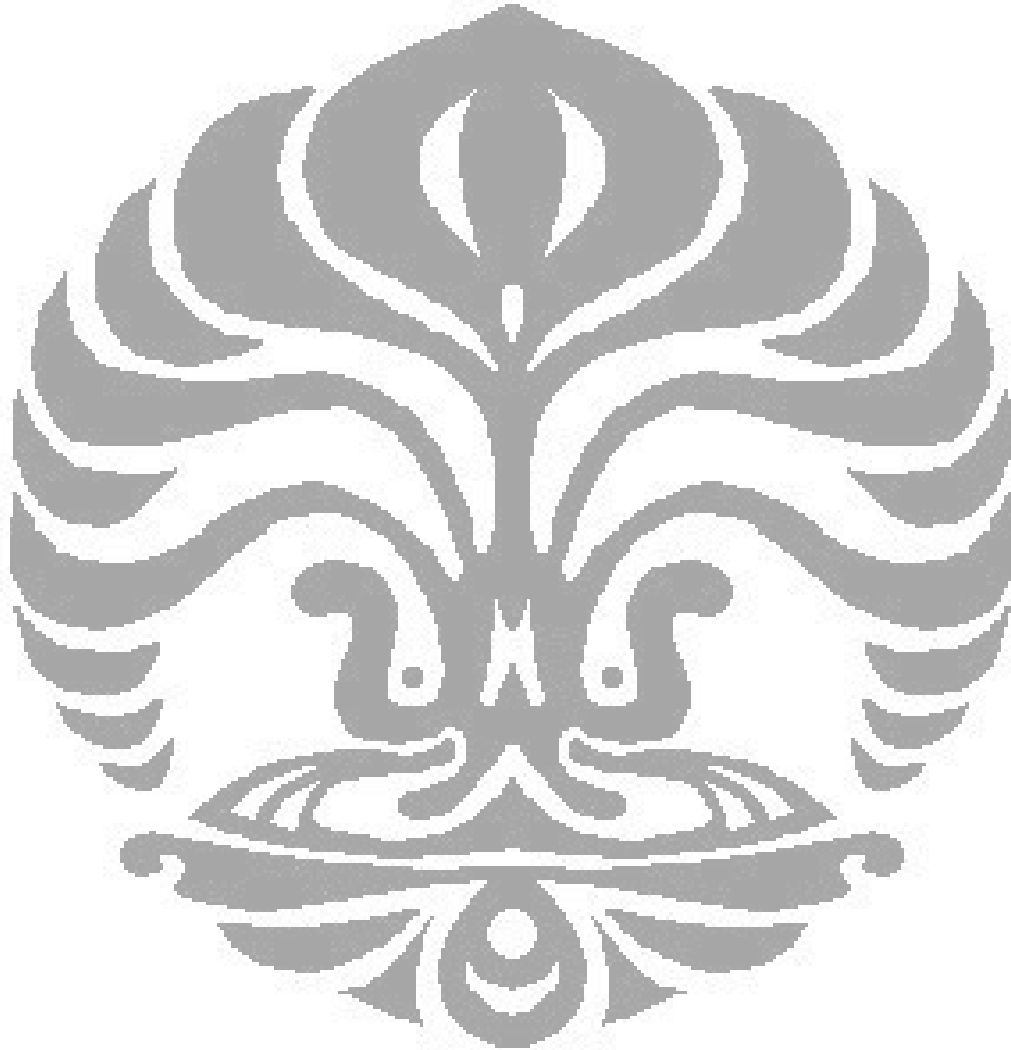
Berikut adalah perhitungan volume NaCl yang ditambahkan :

$$\text{Volume NaCl} = 0,1 \times 7 \times 4 = 2,8 \text{ ml} \approx 5 \text{ ml}$$


$$\text{Penyesuaian berat Zymosan} = \frac{2,8 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} = \frac{14,56 \text{ mg}}{x \text{ mg}}, x = 26 \text{ mg.}$$

Untuk membuat larutan zymosan ditimbang sebanyak 26 mg zymosan dan dilarutkan dalam 5 ml NaCl fisiologis.

Sebagai pembawa sediaan yang diberikan secara per oral digunakan larutan CMC-Na 0,5%. Pembuatannya dilakukan dengan melarutkan 500 mg CMC-Na dalam 100 ml akuades hangat.



Lampiran 4.1 Hasil Determinasi Tanaman



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
 (Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
 (Research Center for Biology)
 Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
 Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 7 April 2010

Nomor : 471/IPH.1.02/If.8/IV/2010
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Dwitya Andarwati
 Mhs. UI Npm : 0606071052
 Jl. Tebet Barat Dalam 1A/9


Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Sampel 6	<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.	Apiaceae
2	Sampel 7	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Malvaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara

Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,


 Prof. Dr. Eko Baroto Walujo
 NIP. 195111041975011001

D:\Ident 2010\Dwitya Andarwati2.doc\JJA-SP

Page 1 of 1

Lampiran 4.2
Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk terhadap
Kecepatan Bersihan Karbon Pada Mencit (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui apakah data kecepatan bersihan karbon pada mencit terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis : H_0 = data kecepatan bersihan karbon pada mencit terdistribusi normal
 H_a = data kecepatan bersihan karbon pada mencit tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Daerah Kritis : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hasil : Nilai signifikansi $> 0,05$

Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data terdistribusi normal

Kelompok	Saphiro Wilk		
	Statistic	df	Sig.
1	,874	4	,314
2	,959	4	,774
3	,801	4	,105
4	1,000	4	,999
5	,843	4	,206
6	,906	4	,463
7	,803	4	,107

Lampiran 4.3

Uji Homogenitas Varian Levene terhadap
Data Kecepatan Bersihan Karbon pada Mencit

Tujuan : Untuk mengetahui homogenitas data kecepatan bersihan karbon pada mencit

Hipotesis : Ho = data kecepatan bersihan karbon pada mencit variansi homogen
Ha = data kecepatan bersihan karbon pada mencit tidak variansi homogen

α : 0,05

Daerah Kritis : Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hasil : Nilai signifikansi = $0,346 > 0,05$

Kesimpulan : Ho diterima sehingga data bervariansi homogen

Levene Statistik	df1	df2	Sig.
1,197	6	21	,346

Lampiran 4.4

Uji Analisis Varian Satu Arah Terhadap Data Ukuran Kecepatan Bersihan Karbon
(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna pada data kecepatan bersihan karbon

Hipotesis : Ho = data kecepatan bersihan karbon pada mencit tidak berbeda secara bermakna

Ha = data kecepatan bersihan karbon pada mencit berbeda secara bermakna

Statistik Uji : Uji F

α : 0,05

Daerah Kritis : Ho ditolak jika nilai signifikansi < 0,05

Hasil : Nilai signifikansi > 0,05

Kesimpulan : Ho ditolak sehingga data kecepatan bersihan karbon berbeda secara bermakna

	Jumlah Kuadrat	df	Kuadrat rata-rata	F	Signifikansi
Antar Kelompok	65,596	6	11,599	13,041	0,000
Dalam Kelompok	18,679	21	,889		
Total	88,275	27			

Lampiran 4.4 (lanj.).

Uji Analisis Varian Satu Arah Terhadap Data Ukuran Kecepatan Bersihan Karbon
(SPSS 15.0)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: k

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-2,03625*	,66688	,006	-3,4231	-,6494
	3	-,34175	,66688	,614	-1,7286	1,0451
	4	-2,74800*	,66688	,000	-4,1349	-1,3611
	5	-1,33650	,66688	,058	-2,7234	,0504
	6	,19675	,66688	,771	-1,1901	1,5836
	7	-4,51125*	,66688	,000	-5,8981	-3,1244
2	1	2,03625*	,66688	,006	,6494	3,4231
	3	1,69450*	,66688	,019	,3076	3,0814
	4	-,71175	,66688	,298	-2,0986	,6751
	5	-,69975	,66688	,306	-,6871	2,0866
	6	2,23300*	,66688	,003	,8461	3,6199
	7	-2,47500*	,66688	,001	-3,8619	-1,0881
3	1	-,34175	,66688	,614	-1,0451	1,7286
	2	-1,69450*	,66688	,019	-3,0814	-,3076
	4	-2,40625*	,66688	,002	-3,7931	-1,0194
	5	-,99475	,66688	,151	-2,3816	,3921
	6	,53850	,66688	,428	-,8484	1,9254
	7	-4,16950*	,66688	,000	-5,5564	-2,7826
4	1	2,74800*	,66688	,000	1,3611	4,1349
	2	-,71175	,66688	,298	-,6751	2,0986
	3	2,40625*	,66688	,002	1,0194	3,7931
	5	1,41150*	,66688	,046	,0246	2,7984
	6	2,94475*	,66688	,000	1,5579	4,3316
	7	-1,76325*	,66688	,015	-3,1501	-,3764
5	1	1,33650	,66688	,058	-,0504	2,7234
	2	-,69975	,66688	,306	-2,0866	,6871
	3	-,99475	,66688	,151	-,3921	2,3816
	4	-1,41150*	,66688	,046	-2,7984	-,0246
	6	1,53325*	,66688	,032	,1464	2,9201
	7	-3,17475*	,66688	,000	-4,5616	-1,7879
6	1	-,19675	,66688	,771	-1,5836	1,1901
	2	-2,23300*	,66688	,003	-3,6199	-,8461
	3	-,53850	,66688	,428	-1,9254	,8484
	4	-2,94475*	,66688	,000	-4,3316	-1,5579
	5	-1,53325*	,66688	,032	-2,9201	-,1464
	7	-4,70800*	,66688	,000	-6,0949	-3,3211
7	1	4,51125*	,66688	,000	3,1244	5,8981
	2	2,47500*	,66688	,001	1,0881	3,8619
	3	4,16950*	,66688	,000	2,7826	5,5564
	4	1,76325*	,66688	,015	,3764	3,1501
	5	3,17475*	,66688	,000	1,7879	4,5616
	6	4,70800*	,66688	,000	3,3211	6,0949

*. The mean difference is significant at the .05 level.