



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN
EKSTRAK ETANOL UMBI SARANG SEMUT
(*Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M. Perry) PADA TIKUS
PUTIH JANTAN**

SKRIPSI

**ANNISA RAHMA HENDARSULA
0806364422**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI SARJANA EKSTENSI
DEPARTEMEN FARMASI
DEPOK
JULI 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN
EKSTRAK ETANOL UMBI SARANG SEMUT
(*Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M. Perry) PADA TIKUS
PUTIH JANTAN**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**ANNISA RAHMA HENDARSULA
0806364422**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI SARJANA EKSTENSI
DEPARTEMEN FARMASI
DEPOK
JULI 2011**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Annisa Rahma Hendarsula

NPM : 0806364422

Tanda Tangan : 



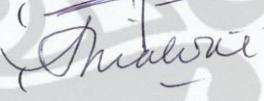
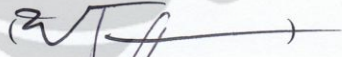

Tanggal : 15 Juli 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Annisa Rahma Hendarsula
NPM : 0806364422
Program Studi : Sarjana Farmasi Ekstensi
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Imunostimulan Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M. Perry) pada Tikus Putih Jantan

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Santi Purna Sari, M.Si., Apt. ()
Pembimbing II : Dr. Katrin, M.S., Apt. ()
Penguji I : Dra. Azizahwati, M.S., Apt ()
Penguji II : Dr. Hasan Rachmat, Apt ()
Penguji III : Dr. Harmita, Apt. ()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 15 Juli 2011

KATA PENGANTAR

Bismillahirrohmanirrohim,

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmatNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang diajukan sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi.

Ucapan terima kasih ingin penulis sampaikan kepada pihak yang telah bersedia memberikan bantuan baik moril maupun materil selama penyusunan skripsi ini, yakni kepada:

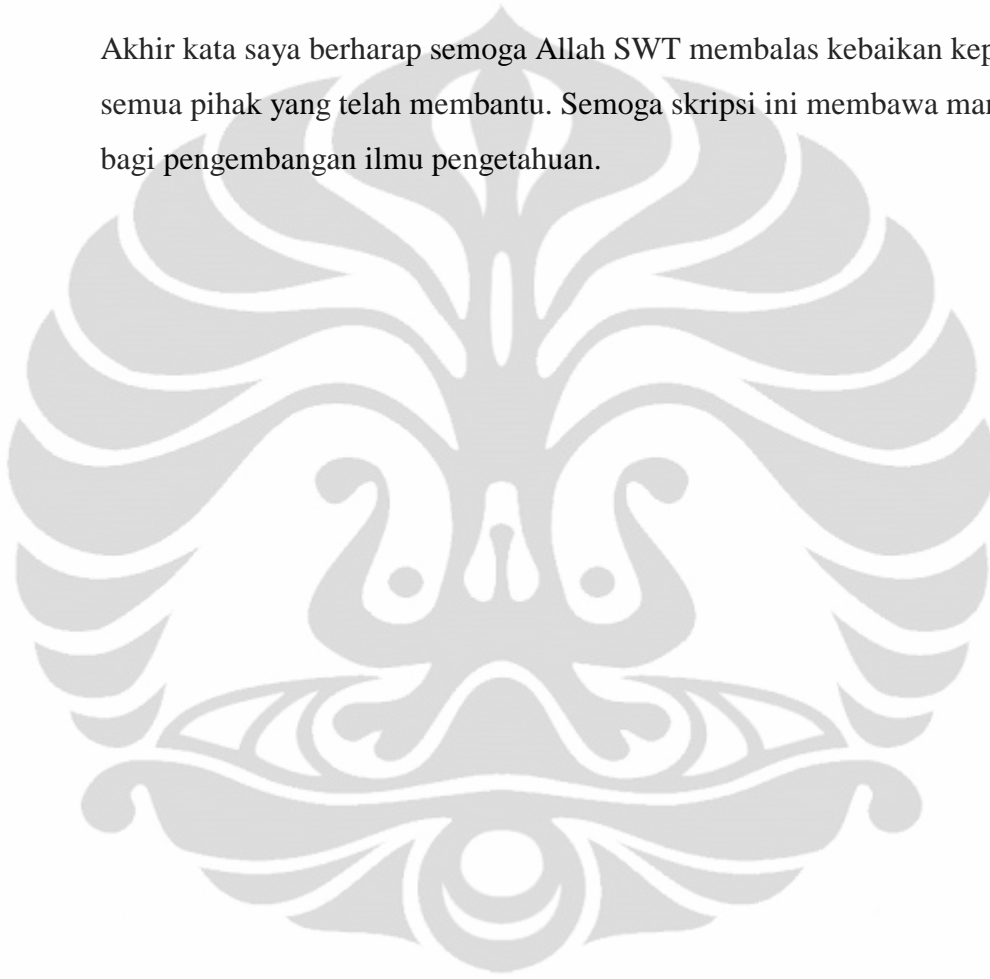
- (1) Ibu Santi Purna Sari, M.Si., Apt dan Dr. Katrin M.S., Apt selaku pembimbing yang telah memberikan saran, bantuan, dan dukungan serta tenaga dan pemikirannya selama penyusunan skripsi.
- (2) Ibu Dr. Nelly D. Leswara M.Sc., sebagai pembimbing akademis atas pengarahannya dan bimbingannya selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
- (3) Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
- (4) Ibu Dr. Azizahwati, M.S., Apt selaku Ketua Program Sarjana Ekstensi.
- (5) Ibu Dr. Retnosari Andrajati, M.S., Apt selaku Kepala Laboratorium Farmakologi.
- (6) Ibu Dr. Katrin, M.S., Apt selaku Kepala Laboratorium Fitokimia Departemen Farmasi.
- (7) Ibu Prof. Dr. Atiek Soemiati, M.S., Kepala Laboratorium Mikrobiologi Departemen Farmasi.
- (8) Dr. Ary Prihardhyanto Keim, Kepala Kebun Biologi Wamena P2B LIPI.
- (9) Seluruh staf pengajar, karyawan dan sekretariat Departemen Farmasi FMIPA UI.
- (10) Keluarga tercinta, terutama untuk Mama, Bapak, dan Hafidh atas doa, dukungan dan semangat yang telah diberikan.

- (11) Rekan-rekan penelitian di Laboratorium Farmakologi dan Fitokimia serta teman-teman Ekstensi Farmasi 2008 dan Reguler 2007 atas kerjasama, bantuan, dan motivasi kepada penulis.
- (12) Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu atas segala dukungan dan bantuan dalam penyusunan skripsi ini.

Akhir kata saya berharap semoga Allah SWT membalas kebaikan kepada semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Penulis,

2011



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Annisa Rahma Hendarsula
NPM : 0806364422
Program Studi : Sarjana Farmasi Ekstensi
Departemen : 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 Ekstrak Etanol Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M. Perry) pada Tikus Putih Jantan

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 mempublikasikan 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 : Depok

Pada tanggal : 15 Juli 2011

Yang menyatakan



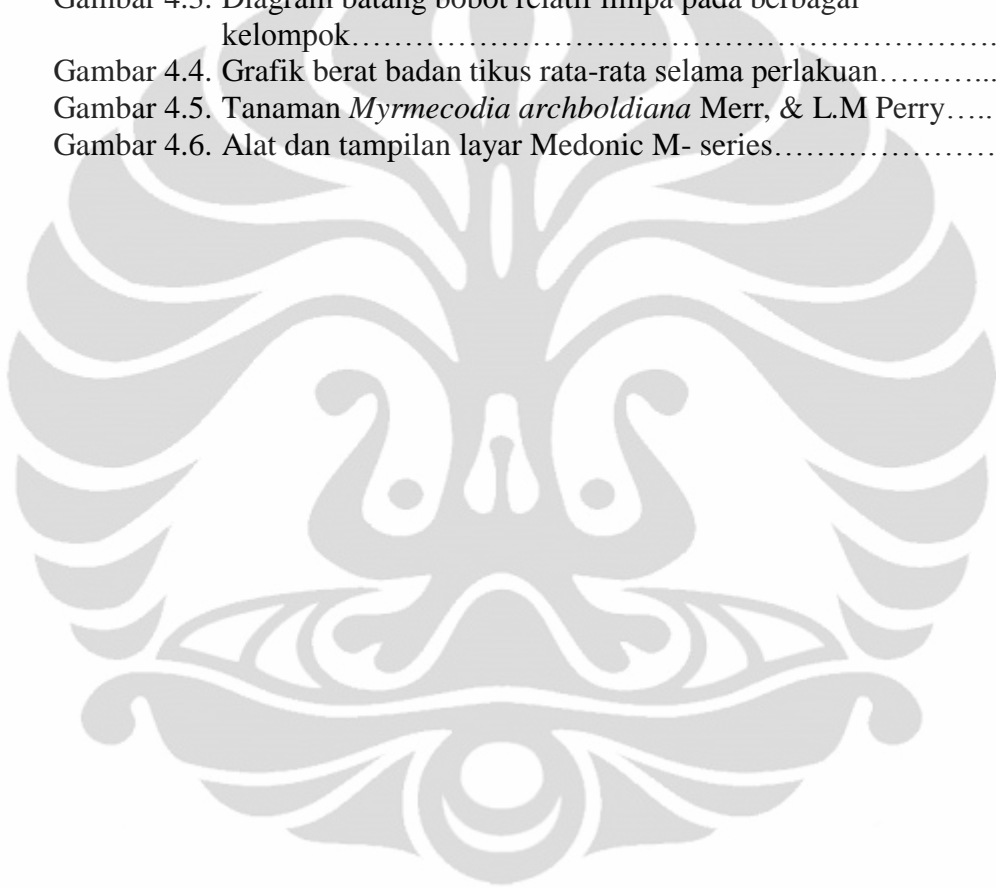
(Annisa Rahma Hendarsula)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vii
ABSTRAK.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar belakang.....	1
1.2. Tujuan penulisan.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Sarang semut.....	4
2.2 Sistem imun.....	9
2.3 Imunomodulasi.....	17
2.4 Darah.....	22
2.5 Organ limfoid.....	25
2.6 Uji pemeriksaan sistem imun.....	26
2.7 Simplisia.....	29
2.8 Metode Ekstraksi.....	29
2.9 Pengujian Terhadap Ekstrak.....	31
3. METODE PENELITIAN	
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	34
3.2. Alat.....	34
3.3. Bahan.....	34
3.4. Cara Kerja.....	35
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	46
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan.....	60
5.2. Saran.....	60
DAFTAR ACUAN	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur kimia levamisol dan levamisol hidroklorida.....	20
Gambar 2.2. Struktur kimia isoprinosin.....	21
Gambar 2.3. Struktur kimia muramil dipeptida.....	22
Gambar 4.1. Grafik jumlah eritrosit, leukosit, limfosit, dan granulosit pada setiap kelompok perlakuan.....	50
Gambar 4.2. Persentase rata-rata perubahan volume kaki pada tikus yang disuntik sel darah merah domba.....	53
Gambar 4.3. Diagram batang bobot relatif limpa pada berbagai kelompok.....	58
Gambar 4.4. Grafik berat badan tikus rata-rata selama perlakuan.....	59
Gambar 4.5. Tanaman <i>Myrmecodia archboldiana</i> Merr, & L.M Perry.....	65
Gambar 4.6. Alat dan tampilan layar Medonic M- series.....	65



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Beberapa kandungan kimia pada tumbuhan.....	6
Tabel 2.2	Jumlah leukosit, limfosit, dan granulosit pada tikus <i>Sprague-Dawley</i> normal.....	25
Tabel 3.1	Pembagian kelompok perlakuan.....	43
Tabel 4.1.	Rata-rata jumlah leukosit, limfosit, dan granulosit pada setiap kelompok perlakuan.....	49
Tabel 4.2.	Hasil pengukuran dan persentase rata-rata perubahan volume kaki tikus sebelum dan sesudah pemberian antigen.....	53
Tabel 4.3.	Rata-rata bobot relatif limpa tikus.....	57
Tabel 4.4.	Rendemen ekstrak etnaol umbi sarang semut <i>Myrmecodia archboldiana</i> Merr. & L.M Perry	66
Tabel 4.5.	Susut pengeringan.....	66
Tabel 4.6.	Kadar air.....	66
Tabel 4.7.	Kadar abu total.....	66
Tabel 4.8.	Kadar abu tidak larut dalam asam.....	66
Tabel 4.9.	Identifikasi kandungan kimia.....	67
Tabel 4.10.	Hasil pengukuran jumlah leukosit, limfosit dan granulosit...	68
Tabel 4.11.	Hasil pengukuran volume kaki tikus putih jantan yang diinduksi sel darah merah domba pada berbagai kelompok perlakuan pada jam ke-1.....	69
Tabel 4.12.	Hasil pengukuran volume kaki tikus putih jantan yang diinduksi sel darah merah domba pada berbagai kelompok perlakuan pada jam ke-2.....	70
Tabel 4.13.	Hasil pengukuran volume kaki tikus putih jantan yang diinduksi sel darah merah domba pada berbagai kelompok perlakuan pada jam ke-4.....	71
Tabel 4.14.	Hasil pengukuran volume kaki tikus putih jantan yang diinduksi sel darah merah domba pada berbagai kelompok perlakuan pada jam ke-24.....	72
Tabel 4.15.	Perbandingan bobot limpa.....	73
Tabel 4.16.	Berat badan tikus selama perlakuan.....	74

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Determinasi tanaman sarang semut.....	76
Lampiran 2.	Sertifikat analisis levamisol hidroklorida.....	77
Lampiran 3.	Penetapan dosis.....	78
Lampiran 4.	Perhitungan larutan uji.....	79
Lampiran 5.	Hasil prin alat penghitung sel darah (Medonic M-Series.....	81
Lampiran 6.	Uji statistik jumlah leukosit.....	82
Lampiran 7.	Uji statistik jumlah limfosit.....	85
Lampiran 8.	Uji statistik jumlah granulosit.....	89
Lampiran 9.	Uji statistik terhadap persentase perubahan tebal kaki jam ke-1.....	92
Lampiran 10.	Uji statistik terhadap persentase perubahan tebal kaki jam ke-2.....	95
Lampiran 11.	Uji statistik terhadap persentase perubahan tebal kaki jam ke-4.....	98
Lampiran 12.	Uji statistik terhadap persentase perubahan tebal kaki jam ke-24.....	100
Lampiran 13.	Uji statistik bobot relatif limpa.....	102

ABSTRAK

Nama : Annisa Rahma Hendarsula
Program Studi : Sarjana Ekstensi Farmasi
Judul : Uji Aktivitas Immunostimulan Ekstrak Etanol Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M. Perry) pada Tikus Putih Jantan

Ekstrak etanol umbi sarang semut *Myrmecodia pendens* dan *Myrmecodia tuberosa* telah diteliti memberikan efek immunostimulan, namun jenis yang banyak dipasarkan adalah *Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M. Perry. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah umbi sarang semut jenis *Myrmecodia archboldiana* juga memberikan efek immunostimulan. Penelitian ini menggunakan tikus jantan galur *Sprague-Dawley* berumur 3 bulan sebanyak 25 ekor dan dibagi secara acak menjadi 5 kelompok; kelompok kontrol negatif diberikan larutan koloidal CMC 0,5%, kelompok kontrol positif diberikan levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb, kelompok dosis I, II, dan III masing-masing diberikan ekstrak etanol umbi sarang semut 0,1962, 0,3924 dan 0,7848 g/200 g bb. Masing-masing kelompok diberikan bahan uji secara oral selama 14 hari. Pada hari ke-8, setiap tikus disuntikkan sel darah merah domba (SDMD) 5% secara intraperitoneal. Pada hari ke-15, setiap tikus diberikan SDMD 5% secara subplantar untuk uji hipersensitivitas tipe lambat, selain itu dihitung jumlah leukosit, limfosit, dan granulosit, dan bobot relatif limpa. Ekstrak etanol *Myrmecodia archboldiana* dosis 0,1962 g/200 g bb memiliki aktivitas immunostimulan berdasarkan peningkatan volume kaki jam ke-2 setara dengan levamisol hidroklorida pada uji hipersensitivitas tipe lambat, namun tidak meningkatkan jumlah leukosit, limfosit, granulosit dan bobot relatif limpa.

Kata Kunci : hipersensitivitas tipe lambat, levamisol, immunostimulan, *Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M Perry, sarang semut
xiii + 103 halaman; 9 gambar; 19 tabel; 13 lampiran
Daftar Pustaka : 47 (1979-2011)

ABSTRACT

Nama : Annisa Rahma Hendarsula
Program Studi : Pharmacy Extension
Judul : Immunostimulant Activity Test for Ethanolic Extracts of Sarang Semut Tubers (*Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M. Perry) in White Male Rat

Ethanolic extracts of sarang semut tubers *Myrmecodia pendens* and *Myrmecodia tuberosa* had been research have immunostimulant's effect, but *Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M. Perry is more commercially. The aims of this study was to determine immunostimulatory effects of *Myrmecodia archboldiana*. This study used 3-month-old male Sprague-Dawley rats with 25 rat and divided into 5 groups. Group negative control given colloidal solution CMC 0,5%, group positive control given levamisol hydrochloride 10 mg/200 g body weight (bw), group dose I, II, and III are given the ethanolic extract of *Myrmecodia archboldiana* at doses of 0,1962, 0,3924 and 0,7848 g/200 g bw. They were administrated orally for 14 days. On day 8th, every rat injected 5% sheep red blood cells (SRBC) by intraperitoneal. On the 15th day, each rat was given 5% SRBC by subplantar for delayed type hypersensitivity test and the number of leukocytes, lymphocytes, granulocytes, and relative spleen weights was calculated. Ethanolic extract of *Myrmecodia archboldiana* at dose 0,1962 gram/200 g bw has immunostimulant activity by increase in paw volume on hour-2 equivalent with levamisole hydrochloride on delayed type hypersensitivity test, but did not increase the number of leukocytes, lymphocytes, granulocytes and relative spleen weights.

Keywords : delayed type hypersensitivity, levamisol, immunostimulant, *Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M Perry, sarang semut
xiii + 103 pages, 9 pictures, 19 tables, 13 appendix
Bibliography: 47 (1979-2011)

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lingkungan mengandung bermacam-macam agen infeksi, seperti virus, jamur, dan parasit. Banyak dari agen ini dapat menyebabkan kerusakan patologis dan akhirnya membunuh hospes jika penyebarannya tidak dihambat. Sistem imun bekerja untuk melindungi tubuh dari infeksi oleh mikroorganisme, membantu proses penyembuhan dalam tubuh, dan membuang atau memperbaiki sel yang rusak apabila terjadi infeksi atau cedera (Corwin, 2009). Pada individu normal, sebagian besar infeksi berlangsung dalam jangka waktu terbatas dan menyebabkan sedikit sekali kerusakan permanen karena sistem imun melawan agen infeksi dengan mengendalikan atau menghancurkannya (Wahab dan Julia, 2002). Kondisi lingkungan dan gaya hidup saat ini dipenuhi oleh stres, cuaca yang tidak menentu, pola makan tidak sehat, kurang berolahraga dan polusi menyebabkan penurunan imunitas tubuh atau gagalnya respon imun bereaksi secara adekuat (Weir, 1990). Faktor tersebut dapat menyebabkan mudahnya agen infeksi masuk ke tubuh setiap saat menimbulkan kerusakan jaringan atau penyakit mulai dari flu, diare, batuk, dan demam hingga penyakit yang lebih serius yaitu pneumonia, tumor, dan kanker (Guyton dan Hall, 1996), sehingga diperlukan peningkatan imunitas.

Peningkatan imunitas dapat dilakukan dengan cara memperbaiki fungsi sistem imun menggunakan bahan yang merangsang sistem tersebut yang disebut imunostimulator (Baratawidjaja, 1996). Imunostimulan dapat memperkuat ketahanan tubuh secara alami dalam hal melawan berbagai infeksi virus dan bakteri atau untuk membantu dalam pengobatan penyakit yang berhubungan dengan penekanan sistem imun seperti kanker, SARS, AIDS dan lainnya. Imunostimulan bekerja dengan cara menstimulasi faktor utama sistem imun, antara lain melalui fagositosis, sistem komplemen, sekresi antibodi IgA, pelepasan interferon α dan γ , limfosit T dan B, sintesis antibodi spesifik dan sitokin, dan sintesis surfaktan paru-paru (Petrunov, Nenkov, and Shekerdjiisky, 2007).

Indonesia merupakan negara yang kaya akan berbagai jenis tumbuhan, sebagian diantaranya telah dibuktikan mempunyai khasiat sebagai obat dan telah digunakan sejak zaman dahulu sampai saat ini (Sriningsih dan Agung, 2009). Beberapa tanaman yang telah diketahui sebagai imunostimulan antara lain echinaceae (*Echinacea purpurea*), meniran (*Phyllanthus niruri L.*), mengkudu (*Morinda citrifolia*), dan sambiloto (*Andrographis paniculata*) (Suhirman dan Winarti, n.d.). Salah satu tanaman obat yang berpotensi sebagai sumber agen imunostimulan yang baru adalah sarang semut. Sarang semut merupakan tanaman yang memiliki umbi tajam dari famili *Rubiaceae* yang banyak terdapat di daerah Papua (Alam dan Waluyo, 2006). Secara empiris rebusan air dari umbi sarang semut digunakan untuk pengobatan penyakit seperti tumor, kanker, jantung, wasir, diare, asam urat, TBC, dan lain-lain (Subroto dan Saputro, 2008).

Tanaman sarang semut terdiri dari berbagai spesies, pengujian ilmiah terhadap efek imunostimulan ekstrak etanol umbi sarang semut jenis *Myrmecodia pendens* dan *Myrmecodia tuberosa* telah dilakukan melalui uji proliferasi limfosit dan fagositosis makrofag. Pengujian ini dilakukan melalui uji *in vitro*, dinyatakan bahwa ekstrak etanol *Myrmecodia pendens* pada konsentrasi 50 µg/ml menunjukkan aktifitas yang lebih tinggi pada fagositosis makrofag dibandingkan dengan *Myrmecodia tuberosa*. Pada *Myrmecodia tuberosa* tercatat adanya terpen dan senyawa fenolik sedangkan pada *Myrmecodia pendens* tercatat adanya flavonoid, tanin, triterpenoid, saponin, kuinon, karbohidrat, dan glikosida yang merupakan agen imunostimulan (Hertiani, Sasmito, Sumardi, and Ulfah, 2010; Soeksmanto, Subroto, Wijaya, and Simanjuntak, 2010; Wagner, 1999).

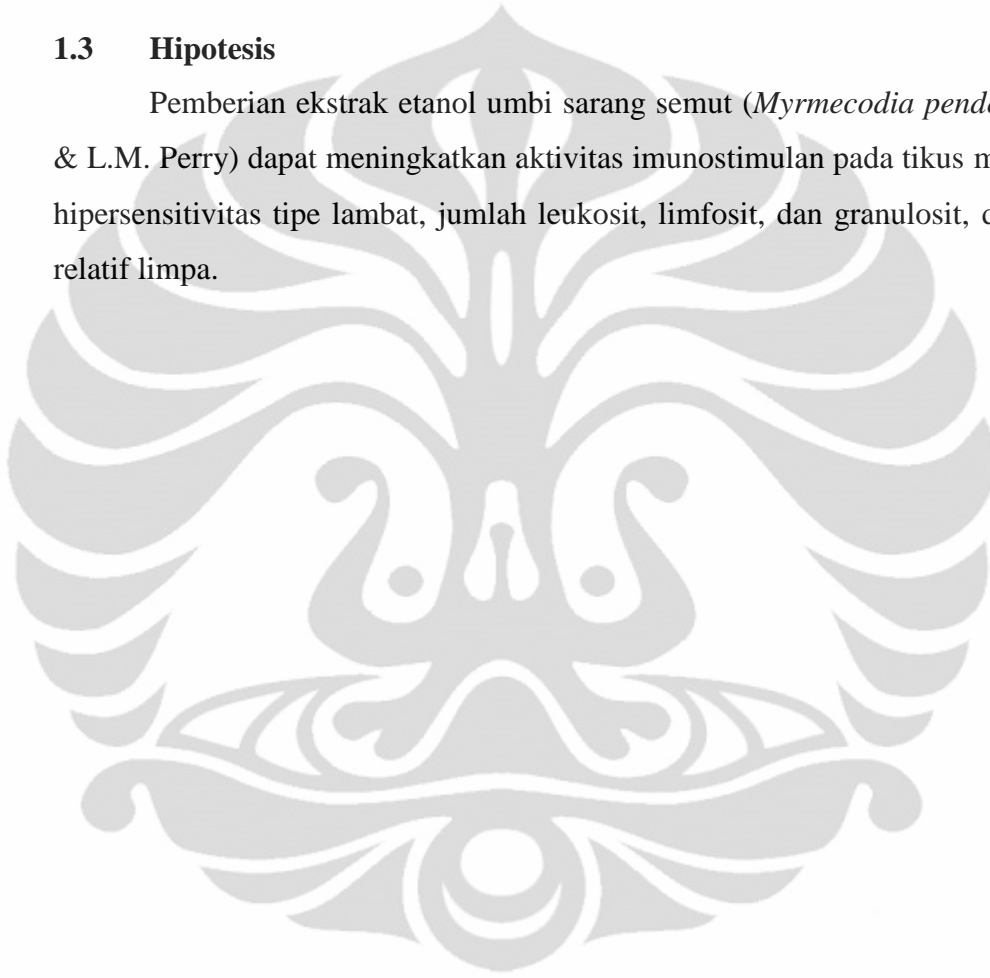
Berdasarkan hasil penelitian diatas dapat dilihat adanya kemungkinan tanaman yang berada dalam satu suku memiliki kandungan dan efek yang serupa (Hertiani, Sasmito, Sumardi, and Ulfah, 2010). Sarang semut *Myrmecodia archboldiana* merupakan jenis yang banyak dipasarkan, hal ini mendorong perlu dilakukannya pengujian imunostimulan terhadap *Myrmecodia archboldiana* yang juga banyak ditemukan di hutan Wamena, Papua Barat. Beberapa metode yang akan digunakan yaitu uji hipersensitifitas tipe lambat, penghitungan jumlah leukosit, limfosit, dan granulosit, dan bobot relatif limpa.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol umbi sarang semut jenis *Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M. Perry memiliki aktivitas imunostimulan pada tikus putih jantan.

1.3 Hipotesis

Pemberian ekstrak etanol umbi sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M. Perry) dapat meningkatkan aktivitas imunostimulan pada tikus melalui uji hipersensitivitas tipe lambat, jumlah leukosit, limfosit, dan granulosit, dan bobot relatif limpa.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sarang semut (*Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M. Perry)

2.1.1 Deskripsi umum

Tanaman sarang semut diklasifikasikan sebagai berikut :

Dunia : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Rubiales

Suku : Rubiaceae

Marga : *Myrmecodia*

Jenis : *Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M. Perry

(Jones and Luchsinger, 1987)

Sarang semut merupakan salah satu tumbuhan epifit dari bangsa Rubiaceae yang dapat berasosiasi dengan semut. Penyebaran tumbuhan sarang semut banyak ditemukan, mulai dari Semenanjung Malaysia hingga Filipina, Kamboja, Sumatera, Kalimantan, Jawa, Papua, Papua Nugini, hingga Kepulauan Solomon. Di Propinsi Papua, tumbuhan sarang semut dapat dijumpai, terutama di daerah Pegunungan Tengah, yaitu di hutan belantara Kabupaten Jayawijaya, Kabupaten Tolikara, Kabupaten Puncak Jaya, Kabupaten Pegunungan Bintang, dan Kabupaten Paniai. Keanekaragaman terbesar dari tumbuhan sarang semut ditemukan di Pulau Papua dimana spesies dataran tingginya adalah lokal spesifik (Subroto dan Saputro, 2008).

Tumbuhan ini merupakan tumbuhan epifit yang menempel di pohon-pohon besar yang batang bagian bawahnya menggelembung berisi rongga-rongga yang disediakan sebagai sarang semut jenis tertentu. Tumbuhan ini sejak dari biji berkecambah, batang bagian bawahnya secara progresif menggelembung dengan sendirinya. Dalam waktu beberapa bulan, didalam batang terbentuk rongga-rongga yang cukup kompleks mirip sarang semut. Rongga-rongga itu pada akhirnya akan menarik perhatian semut-semut jenis tertentu untuk datang dan

akhirnya membentuk koloni didalamnya. Jenis semut yang umum tinggal di dalam sarang semut adalah marga *Iridomyrmex*. Semut genus ini memungkinkan adanya senyawa iridoid dalam ekstrak, senyawa ini merupakan golongan monoterpenoid yang digunakan semut dalam mekanisme pertahanan, senyawa ini juga berperan dalam pertahanan tanaman terhadap herbivora (Hertiani, Sasmito, Sumardi, and Ulfah, 2010).

Bagian yang sering digunakan adalah umbinya. Umbi pada tumbuhan sarang semut umumnya berbentuk bulat saat muda, kemudian menjadi lonjong memendek atau memanjang setelah tua dan umbi hampir selalu berduri. Umbinya memiliki suatu sistem jaringan lubang-lubang yang bentuk serta interkoneksi dari lubang-lubang tersebut sangat khas sehingga digunakan untuk mengembangkan sistem klasifikasi dari genus ini (Subroto dan Saputro, 2008).

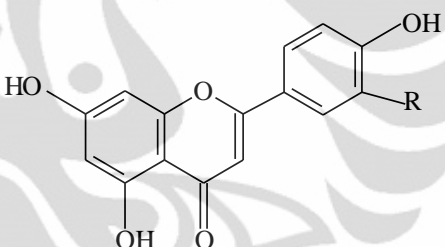
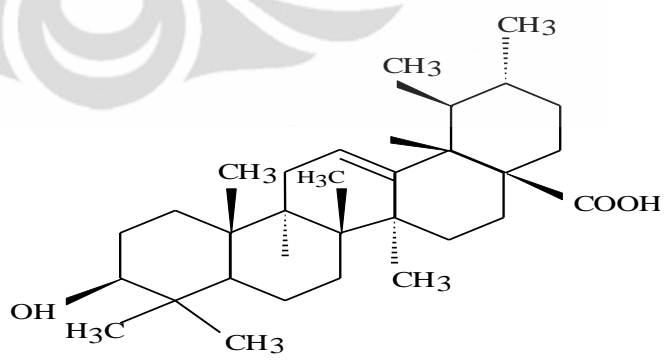
Tumbuhan sarang semut merupakan anggota famili dari Rubiaceae, beberapa contoh tanaman dari famili ini antara lain kopi jawa (*Coffea arabica*), mengkudu (*Morinda citrifolia*), kina (*Cinchona succirubra*), dan gambir (*Uncaria gambir*) (Tjitrosoepomo, 1991). Pada tanaman sarang semut terdiri atas 5 marga, tetapi hanya 2 marga yang paling dekat berasosiasi dengan semut yaitu *Myrmecodia* dan *Hymenophyllum*. *Myrmecodia* terdiri dari 45 jenis dan *Hymenophyllum* terdiri dari 25 jenis. Beberapa jenis sarang semut jenis *Myrmecodia* antara lain *Myrmecodia tuberosa*, *Myrmecodia pendens*, *Myrmecodia alata*, *Myrmecodia oblongata*, *Myrmecodia brassii* dan *Myrmecodia archboldiana* (Subroto dan Saputro, 2008; Trustees of The Royal Botanic Gardens, Kew, 1997).

Sarang semut jenis *Myrmecodia archboldiana* berbentuk seperti botol bergerigi yang tidak beraturan dan berduri, umumnya berukuran 30 x 16 cm, memiliki tangkai daun dan pelepah berwarna oranye kemerahan, serta bunga yang berwarna putih. Tanaman ini dapat berada pada ketinggian 1800 hingga 2200 m dan umumnya epifit di hutan yang berlumut. Sarang semut *Myrmecodia archboldiana* terdapat di Kabupaten Jayawijaya Papua Barat dan Papua New Guinea (Arnold Arboretum of Harvard University, 1968) (Gambar 4.5).

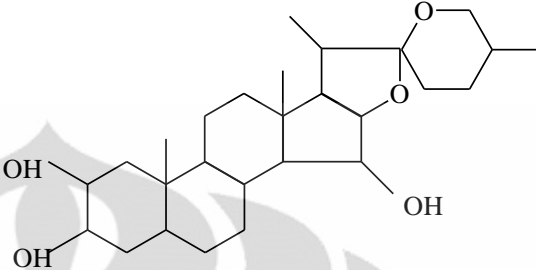
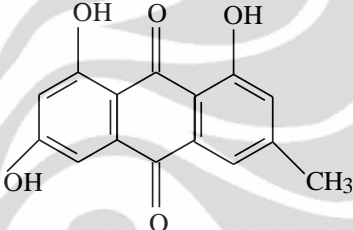
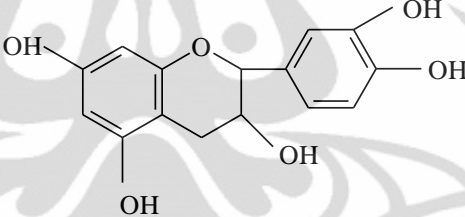
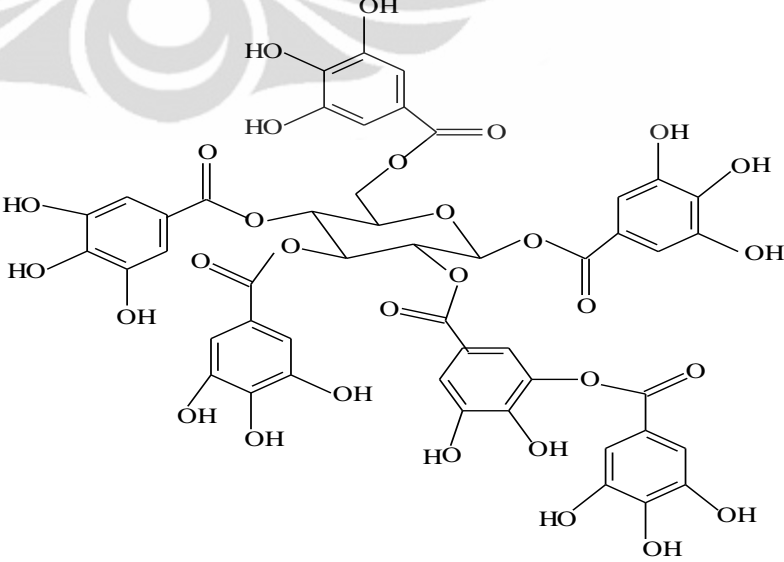
2.1.2 Kandungan Kimia

Pengujian kandungan kimia dari tumbuhan sarang semut yang telah dilakukan adalah pada jenis *Myrmecodia pendens* dan *Myrmecodia tuberosa*. *Myrmecodia pendens* menunjukkan adanya senyawa triterpenoid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, karbohidrat, dan glikosida serta terdapat beberapa mineral yang terkandung didalamnya yaitu kalsium, natrium, kalium, seng, besi, fosfor, dan magnesium, sedangkan pada *Myrmecodia tuberosa* terdapat terpen dan senyawa fenolik (Subroto dan Saputro, 2008; Hertiani, Sasmito, Sumardi, and Ulfah, 2010; Wijaya, 2010). Namun penapisan kimia untuk jenis *Myrmecodia archboldiana* belum ditemukan adanya penelitian.

Tabel 2.1 Beberapa kandungan kimia pada tumbuhan

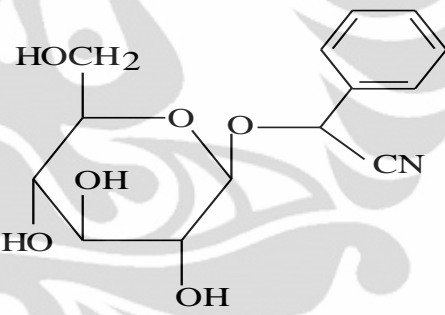
Golongan	Contoh senyawa
Flavonoid	Apigenin, R = H Luteolin, R= OH 
Triterpenoid	Asam ursolat 

lanjutan

Golongan	Contoh senyawa
Saponin	<p data-bbox="564 327 719 360">Digitogenin</p> 
Kuionon	<p data-bbox="564 703 667 736">Emodin</p> 
Tanin	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="564 1032 868 1066">• Tanin terkondensasi  <p data-bbox="564 1294 667 1328">Katekin</p> <ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="564 1337 847 1370">• Tanin terhidrolisis  <p data-bbox="564 1939 687 1973">Galotanin</p>

Universitas Indonesia

lanjutan

Golongan	Contoh senyawa
Karbohidrat	<ul style="list-style-type: none"> • Monosakarida <div style="text-align: center;"> $\begin{array}{c} \text{CHO} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{OH} \\ \\ \text{HO} - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{OH} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$ <p>D-Glukosa</p> </div>
Glikosida	<ul style="list-style-type: none"> • Glikosida sianogen <div style="text-align: center;">  <p>Prunasin</p> </div>

[Sumber : Robinson, 1995)

2.1.3 Khasiat dan kegunaannya

Secara empiris rebusan air dari umbi sarang semut dapat mengobati beragam penyakit berat seperti tumor, kanker, jantung, wasir, TBC, rematik, gangguan asam urat, stroke, maag, gangguan fungsi ginjal dan prostat. Kemampuan ini diduga berkaitan dengan kandungan flavonoid yang terdapat didalamnya. Flavonoid bersifat sebagai antioksidan yang dapat menginaktivasi karsinogen, antiproliferasi, penghambatan siklus sel, induksi apoptosis dan diferensiasi, dan inhibisi angiogenesis. Sarang semut jenis *Myrmecodia pendens*

Universitas Indonesia

telah diteliti memiliki aktivitas imunostimulan, antiinflamasi, anti kanker, dan penghambat xantin oksidase namun untuk jenis *Myrmecodia archboldiana* belum dilakukan penelitian lebih lanjut sebagai efek imunostimulan (Subroto dan Saputro, 2008; Soeksmanto, Subroto, Wijaya, and Simanjuntak, 2010; Hertiani, Sasmito, Sumardi, and Ulfah, 2010; Kristina, 2008; Simanjuntak, Fanny, dan Subroto, 2010)

2.2 Sistem imun

Sistem imun adalah suatu mekanisme yang digunakan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya sebagai perlindungan terhadap bahaya yang dapat berasal dari berbagai bahan dalam lingkungan hidup (Baratawidjaja, 1996). Sistem imun terdiri atas sistem imun non spesifik dan spesifik.

2.2.1. Sistem imun non spesifik

Sistem imun non spesifik disebut juga sistem imun alamiah atau sistem imun bawaan (*innate*). Sistem imun non spesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme karena dapat memberikan respon langsung terhadap antigen, walaupun tubuh tidak terpapar oleh antigen tersebut sebelumnya. Pertahanan sistem imun non spesifik meliputi pertahanan fisik dan mekanik, pertahanan biokimia, pertahanan humoral, dan pertahanan seluler (Baratawidjaja, 1996; Kresno, 2001).

2.2.1.1. Pertahanan fisik atau mekanik

Dalam sistem pertahanan fisik atau mekanik, kulit, selaput lendir, silia saluran napas, batuk dan bersin, akan mencegah masuknya berbagai kuman patogen ke dalam tubuh. Sebagian besar bakteri gagal bertahan hidup lama pada kulit karena pengaruh hambatan langsung asam laktat dan asam lemak dalam keringat dan sekresi sebaseus. pH asam dari keringat dan sekresi sebaseus mempunyai efek antimikrobial yang mengurangi kemungkinan infeksi melalui kulit (Baratawidjaja, 1996; Wahab dan Julia, 2002).

2.2.1.2. Pertahanan biokimia

Bahan yang disekresi mukosa saluran napas dan telinga berperan dalam pertahanan tubuh secara biokimiawi. Lisozim dalam keringat, ludah, air mata dan air susu melindungi tubuh terhadap bakteri Gram positif karena mampu memecah peptidoglikan yang melekat pada dinding sel bakteri. Air susu ibu mengandung laktoferin dan asam neuraminat yang mempunyai sifat antibakterial terhadap *E.coli* dan *Staphylococcus*. Pengerusakan oleh asam lambung, enzim pencernaan, dan empedu di usus halus terhadap organisme yang tertelan dapat mencegah infeksi beberapa mikroorganisme. pH vagina yang rendah dan spermin dalam semen dapat mencegah tumbuhnya beberapa mikroorganisme (Baratawidjaja, 1996; Wahab dan Julia, 2002).

2.2.1.3. Pertahanan humoral

Berbagai bahan dalam sirkulasi berperan pada pertahanan humoral, yaitu komplemen, interferon, dan *C-Reactive protein* (CRP). Komplemen merupakan molekul dari sistem imun nonspesifik yang ditemukan di sirkulasi dalam keadaan tidak aktif, tetapi setiap waktu dapat diaktifkan oleh berbagai bahan seperti antigen. Komplemen berperan meningkatkan fagositosis dan mempermudah destruksi bakteri dan parasit karena komplemen dapat menghancurkan sel membran banyak bakteri, melepaskan bahan kemotaktik yang dapat melepaskan makrofag ke tempat bakteri dan komponen komplemen lain dapat mengendap pada permukaan bakteri sehingga memudahkan makrofag untuk mengenal dan memakannya (Baratawidjaja, 1996) .

Interferon (IFN) adalah suatu glikoprotein yang dihasilkan oleh berbagai sel tubuh yang mengandung nukleus dan dilepas sebagai respon terhadap infeksi virus. Interferon mempunyai sifat antivirus dengan jalan menginduksi sel yang berada disekitar sel yang terinfeksi virus sehingga menjadi resisten terhadap virus, selain itu interferon juga dapat mengaktifkan sel *Natural Killer* (sel NK). Sel yang diinfeksi virus akan menjadi ganas dan menunjukkan perubahan pada permukaannya. Perubahan tersebut akan dikenal oleh sel NK yang kemudian membunuhnya sehingga penyebaran virus dapat dicegah. Sekarang diketahui bahwa IFN adalah salah satu molekul tergolong sitokin.

Universitas Indonesia

CRP merupakan salah satu contoh dari protein fase akut, yaitu berbagai protein yang kadarnya dalam darah meningkat pada infeksi akut. CRP mengikat 100 x atau lebih dan berperan pada imunitas nonspesifik yang dengan bantuan Ca^{2+} dapat mengikat berbagai molekul antara lain fosforikolin yang ditemukan pada permukaan bakteri atau jamur, kemudian akan mengikat komplemen (Baratawidjaja, 1996).

2.2.1.4. Pertahanan seluler

Fagosit, makrofag, sel NK, dan reaksi inflamasi berperan dalam sistem imun non spesifik seluler.

a. Fagosit

Berbagai sel dalam tubuh dapat melakukan fagositosis, tetapi sel utama yang berperan dalam pertahanan nonspesifik adalah sel mononuklear (monosit dan makrofag) yang aktif terhadap infeksi bakteri, virus, dan parasit intraseluler serta sel polimorfonuklear atau granulosit yang memberikan pertahanan utama terhadap bakteri. Kedua sel berasal dari sel asal hemopoietik, dimana awalnya sel berkembang menjadi 2 jenis progenitor yaitu limfoid dan mieloid. Progenitor limfoid akan berdiferensiasi menjadi sel limfosit T (sel T) dan sel limfosit B (sel B). Progenitor mieloid berdiferensiasi menjadi sel-sel monosit, mastosit atau basofil, granulosit dan megakariosit.

Proses kerja dari sel fagosit juga berinteraksi dengan komplemen dan sistem imun spesifik. Penghancuran kuman terjadi dalam beberapa tingkat yaitu kemotaksis, menangkap, memakan (fagositosis), membunuh dan mencerna. Kemotaksis adalah gerakan fagosit ke tempat infeksi sebagai respon terhadap berbagai faktor seperti produk bakteri dan faktor biokimiawi yang lepas pada aktivasi komplemen. Jaringan yang rusak atau mati juga dapat melepaskan faktor kemotaktik. Sel polimorfonuklear bergerak cepat dan sudah berada di tempat infeksi dalam 2 sampai 4 jam, sedangkan monosit bergerak lebih lambat dan memerlukan 7 sampai 8 jam ke tempat tujuan.

Proses destruksi mikroorganisme dapat terjadi karena didalam sel fagosit terkandung berbagai bahan antimikrobal seperti lisosom, hidrogen peroksida dan mieloperoksidase. Tahap terakhir fagositosis adalah pencernaan protein,

Universitas Indonesia

polisakarida, lipid, dan asam nukleat di dalam sel oleh enzim lisosom. Antibodi dan komplemen dapat meningkatkan fagositosis (opsonisasi). Antigen yang diikat antibodi akan lebih mudah dikenal oleh fagosit untuk kemudian dihancurkan. Hal ini dikarenakan fagosit mempunyai reseptor terhadap ujung karboksil molekul antibodi (reseptor Fc), sedangkan pada komplemen mempunyai reseptor terhadap fragmen komplemen C3b (reseptor C3b) (Baratawidjaja, 1996; Wahab dan Julia, 2002).

b. Makrofag

Makrofag mempunyai kemampuan untuk hidup lama dan mengandung beberapa granula serta dapat melepaskan berbagai bahan, antara lain lisozim, komplemen, interferon dan sitokin yang berperan dalam pertahanan nonspesifik dan spesifik (Baratawidjaja, 1996).

c. Sel pembunuh alamiah (*Natural Killer*, NK)

Sel ini berasal dari limfoid dalam sumsum tulang. Sel ini mampu mengenali sel-sel tumor tertentu dan perubahan pada permukaan sel yang terinfeksi virus untuk kemudian melisisnya tanpa sensitisasi sebelumnya. Sel ini secara morfologis merupakan limfosit granular besar meliputi 15% limfosit dalam darah (Wahab dan Julia, 2002).

d. Reaksi inflamasi

Manifestasi respon imun nonspesifik lainnya adalah reaksi inflamasi. Sel-sel sistem imun tersebar di seluruh tubuh, tetapi bila terjadi infeksi di suatu tempat perlu upaya memusatkan sel-sel sistem imun itu dan produk-produk yang dihasilkan ke lokasi infeksi. Reaksi inflamasi adalah reaksi tubuh terhadap invasi agen infeksi, antigen lain atau kerusakan jaringan. Selama proses ini berlangsung, terjadi 3 proses penting, yaitu peningkatan aliran darah di area infeksi, peningkatan permeabilitas kapiler akibat retraksi sel-sel endotel yang mengakibatkan molekul-molekul besar (antibodi dan komplemen) dapat menembus dinding vaskular untuk mencapai lokasi inflamasi dan migrasi leukosit ke luar vaskuler.

Reaksi ini dapat terjadi akibat dilepaskannya mediator-mediator tertentu oleh beberapa jenis sel misalnya histamin yang dilepaskan oleh basofil dan mastosit, amin vasoaktif yang dilepaskan oleh trombosit, serta anafilaktoksin berasal dari

Universitas Indonesia

komponen komplemen yang merangsang pelepasan mediator-mediator oleh mastosit dan basofil sebagai reaksi umpan balik. Mediator-mediator ini antara lain merangsang bergeraknya sel-sel polimorfonuklear (PMN) menuju lokasi masuknya antigen serta meningkatkan permeabilitas dinding vaskular yang mengakibatkan eksudasi protein plasma dan cairan (Kresno, 2001; Wahab dan Julia, 2002).

2.2.2. Sistem imun spesifik

Sistem imun spesifik disebut juga sistem imun didapat yang timbul terhadap antigen tertentu pada tubuh yang pernah terpapar sebelumnya (Kresno, 2001). Benda asing atau antigen yang pertama kali muncul segera dikenal oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitisasi sel-sel sistem imun tersebut, bila sel sistem imun tersebut bertemu kembali dengan benda asing yang sama maka benda asing yang terakhir ini akan dikenal lebih cepat, kemudian dihancurkan olehnya. Oleh karena sistem tersebut hanya dapat menghancurkan benda asing yang sudah dikenal sebelumnya, maka sistem itu disebut spesifik (Baratawidjaja, 1996). Dalam tubuh terdapat dua tipe sistem imun spesifik, yaitu sistem imun spesifik humoral dan sistem imun spesifik seluler, sistem imun humoral diperantarai oleh limfosit B dan sistem imun seluler diperantarai oleh limfosit T.

2.2.2.1. Sistem imun spesifik humoral

Sistem imun ini disebut juga imunitas sel-B, karena yang berperan dalam sistem imun spesifik humoral adalah limfosit B atau sel B. Sistem ini membentuk antibodi yang bersirkulasi yaitu molekul globulin yang mampu menyerang agen penginfeksi dalam darah. Antibodi merupakan protein dan disebut globulin yang sekarang dikenal dengan immunoglobulin. Immunoglobulin (Ig) dibentuk oleh sel plasma yang berasal dari proliferasi sel B akibat adanya kontak dengan antigen. Setiap sel B mempunyai reseptor permukaan (IgM atau IgD) yang dapat bereaksi terhadap satu antigen atau kelompok antigen yang serupa. Suatu antigen akan berinteraksi dengan limfosit B yang mempunyai reseptor permukaan yang paling sesuai. Setelah berikatan dengan antigen sel B akan terstimulasi untuk berproliferasi dan membentuk klon sel. Sel-sel B yang terpilih ini akan segera

Universitas Indonesia

berubah menjadi sel plasma dan mensekresi antibodi yang spesifik terhadap antigen (Baratawidjaja, 1996; Wahab dan Julia, 2002).

Fungsi utama antibodi ialah pertahanan terhadap infeksi ekstraseluler virus dan bakteri serta menetralkan toksinnya. Antibodi bekerja melalui dua cara yaitu dengan langsung menyerang agen penyebab penyakit tersebut dan dengan mengaktifkan sistem komplemen yang kemudian dengan berbagai cara yang dimilikinya akan merusak penyebab penyakit tersebut. Antibodi merupakan glikoprotein yang terdiri dari 4 rantai polipeptida dasar yang terdiri atas 2 rantai berat (*heavy*, H) dan 2 rantai ringan (*light*, L) yang identik dan dihubungkan oleh ikatan disulfida kovalen. Rantai ringan mempunyai berat molekul 25.000, sedangkan rantai berat mempunyai berat molekul 50.000-77.000 (Baratawidjaja, 1996; Guyton dan Hall, 1996; Wahab dan Julia, 2002). Imunoglobulin terdapat 5 jenis yaitu IgG, IgM, IgA, IgD, dan IgE.

a. Imunoglobulin G (IgG)

IgG adalah imunoglobulin utama pada serum manusia karena kadarnya antara 70-75% dari semua imunoglobulin. IgG ditemukan dalam berbagai cairan antara lain cairan serebrospinal dan urin. IgG adalah satu-satunya antibodi yang dapat melewati plasenta dan masuk ke fetus serta berperan pada imunitas bayi sampai umur 6-9 bulan. IgG dan komplemen bekerja sama sebagai opsonin pada pemusnahan antigen. Opsonisasi adalah proses melapisi partikel antigen oleh antibodi dan atau oleh komponen komplemen sehingga lebih mudah dan cepat dimakan fagosit. IgG dapat mengopsonisasi karena sel-sel fagosit yaitu monosit dan makrofag mempunyai reseptor untuk fraksi Fc dari IgG sehingga dapat mempererat hubungan antara sel fagosit dengan sel sasaran (Baratawidjaja, 1996; Wahab dan Julia, 2002).

b. Imunoglobulin M (IgM)

IgM adalah antibodi pertama yang dibentuk dalam respon imun. Nama M berasal dari makroglobulin karena merupakan imunoglobulin terbesar. IgM mempunyai rumus bangun pentamer yang terdiri dari 5 unit H₂L₂ yang diikat oleh rantai J (*joining*, penghubung) pada fraksi Fc.

Sel B umumnya mengandung IgM pada permukaannya sebagai reseptor antigen. IgM dibentuk lebih dahulu pada respon imun primer dibandingkan

Universitas Indonesia

dengan IgG, karena itu kadar IgM yang tinggi merupakan petunjuk adanya infeksi dini. Bayi yang baru dilahirkan hanya mempunyai IgM 10% dari kadar IgM dewasa, karena IgM ibu tidak dapat menembus plasenta. Fetus umur 12 minggu sudah mulai membentuk IgM bila sel B-nya dirangsang oleh infeksi tertentu seperti sifilis kongenital, rubella, toksoplasmosis dan virus sitomegalo. Kadar IgM anak akan mencapai kadar IgM dewasa pada usia satu tahun. IgM dapat mencegah gerakan mikroorganisme patogen, memudahkan fagositosis, dan merupakan aglutinator kuat terhadap antigen. IgM juga merupakan antibodi yang dapat mengaktifkan komplemen dengan kuat (Baratawidjaja, 1996).

c. **Imunoglobulin A (IgA)**

IgA ditemukan dengan jumlah sedikit dalam serum tetapi kadarnya dalam cairan sekresi saluran napas, saluran cerna, saluran kemih, air mata, keringat, ludah dan air susu lebih tinggi dalam bentuk IgA sekretori (sIgA). IgA dalam serum dan dalam sekresi dapat menetralkan toksin atau virus dan mencegah terjadinya kontak antara toksin atau virus dengan sel sasaran seperti pada membran mukosa. IgA dalam serum dapat mengaglutinasi dan mengganggu motilitas kuman sehingga memudahkan fagositosis. IgA dapat juga meningkatkan fungsi sel polimorfonuklear (opsonisasi) oleh karena sel tersebut memiliki reseptor untuk Fc dari IgA. sIgA dapat mencegah kontak antara mikroorganisme dengan selaput lendir, sehingga mikroorganisme tidak akan dapat menembus dan berkembang biak dalam tubuh. sIgA juga dapat menetralkan toksin dan meningkatkan efek bakteriolitik dengan cara mengaktifkan komplemen (Baratawidjaja, 1996).

d. **Imunoglobulin D (IgD)**

IgD ditemukan dengan kadar yang sangat rendah dalam sirkulasi karena IgD tidak dilepas oleh sel plasma dan sangat rentan terhadap degradasi pada proses proteolitik. IgD berfungsi sebagai reseptor antigen karena ditemukan bersama IgM pada permukaan sel B, selain itu merupakan penanda dari diferensiasi sel B yang lebih matang. IgD diduga dapat mencegah terjadinya toleransi imun apabila sel terpajan oleh antigen, tetapi mekanismenya belum dapat dijelaskan.

e. Imunoglobulin E (IgE)

IgE mudah berikatan dengan permukaan sel mast, basofil dan eosinofil yang pada permukaannya memiliki reseptor untuk fraksi Fc dari IgE. IgE yang terikat berfungsi sebagai reseptor antigen (alergen) dan kompleks antigen-antibodinya memicu terjadinya respon alergi melalui pelepasan mediator. Jumlah IgE pada serum normal sangat sedikit kurang lebih 0,004% tetapi jumlahnya dapat meningkat pada penderita reaksi alergi. Kadar IgE yang tinggi juga dapat ditemukan saat penderita terinfeksi cacing, skistosomiasis, dan diduga berperan pada imunitas parasit. Perlindungan terhadap invasi parasit seperti cacing karena dilepaskannya berbagai granula eosinofil yang toksik untuk parasit (Baratawidjaja, 1996).

2.2.2.2. Sistem imun spesifik seluler

Pada sistem imun spesifik seluler yang berperan adalah limfosit T atau sel T. Limfosit T dibentuk di dalam sumsum tulang tetapi berproliferasi dan berdiferensiasi didalam kelenjar timus sebelum berpindah ke jaringan perifer. Secara umum sel T mempunyai 2 fungsi penting yaitu sebagai regulator dan efektor. Fungsi regulasi dilakukan oleh sel T *helper* (sel Th) yang akan mengenali mikroorganisme atau antigen yang terdapat pada sel makrofag atau sel yang terinfeksi melalui reseptor *T cell receptor* (TCR) dan molekul *major histocompatibility complex* (MHC) kelas-II. Sinyal yang diterima dari sel terinfeksi ini akan menginduksi limfosit untuk memproduksi berbagai jenis limfokin, termasuk diantaranya interferon yang dapat membantu makrofag menghancurkan mikroorganisme tersebut (Kresno, 2001).

Fungsi efektor dilakukan oleh sel T sitotoksik (Tc) yang berfungsi untuk membunuh sel-sel yang terinfeksi virus atau mikroorganisme intraseluler melalui atau bersama-sama dengan MHC kelas I dengan cara kontak langsung antar sel. Sel T sitotoksik juga menghasilkan γ -interferon yang mencegah penyebaran mikroorganisme ke sel-sel yang lain. Fungsi efektor juga menjadi mediator reaksi hipersensitivitas tipe lambat terhadap antigen tertentu dan sensitivitas kontak pada kulit terhadap zat-zat kimia biasa (Kresno, 2001; Wahab dan Julia, 2002; Weir, 1990).

Universitas Indonesia

2.3 Imunomodulasi

Imunomodulasi adalah cara untuk mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu atau untuk menekan fungsi yang berlebihan. Obat yang dapat mengembalikan ketidakseimbangan sistem imun disebut imunomodulator. Obat golongan imunomodulator bekerja menurut tiga cara, yaitu imunorestorasi, imunostimulasi dan imunosupresi. Imunorestorasi dan imunostimulasi disebut imunopotensiasi atau *up regulation* sedangkan imunosupresi disebut juga *down regulation* (Baratawidjaja, 1996).

2.3.1. Imunorestorasi

Imunorestorasi ialah suatu cara untuk mengembalikan fungsi sistem imun yang terganggu dengan memberikan berbagai komponen sistem imun, seperti immunoglobulin dalam bentuk *immune serum globulin (ISG)*, *hyperimmune serum globulin (HSG)*, plasma, dan transplantasi sumsum tulang, jaringan hati, timus, *plasmapheresis* (penghilangan plasma) dan *leukapheresis* (penghilangan leukosit).

2.3.2. Imunosupresi

Imunosupresi merupakan suatu tindakan untuk menekan respon imun. Kegunaannya di klinik terutama pada transplantasi alat tubuh dalam usaha mencegah reaksi penolakan dan pada penyakit autoimun untuk menghambat pembentukan antibodi. Imunosupresan umumnya tidak ditujukan terhadap antigen spesifik, contohnya adalah steroid, azatioprin, siklofosamid.

2.3.3. Imunostimulasi

Imunostimulasi adalah cara memperbaiki fungsi sistem imun dengan menggunakan bahan yang merangsang sistem tersebut (Baratawidjaja, 1996). Imunostimulan atau imunopotensiasi adalah bahan obat yang dapat menstimulasi sistem imun non spesifik pada sistem pertahanan tubuh. Bahan ini dapat disebut juga imunostimulator yang dibagi menjadi dua yaitu biologi dan sintetik. Imunostimulator biologi antara lain hormon timus, limfokin, interferon, antibodi

Universitas Indonesia

monoklonal, bahan yang berasal bakteri dan jamur. Imunostimulator sintetik antara lain levamisol, isoprinosin, dan muramil dipeptida (Baratawidjaja, 1996).

2.3.2.1 Biologi

a. Hormon timus

Sel epitel timus memproduksi beberapa jenis hormon yang berfungsi dalam pematangan sel T dan modulasi sel T yang sudah matang. Hormon tersebut ditemukan dalam darah dan kadarnya menurun pada berbagai penyakit imun, usia lanjut atau bila timus diangkat. Terdapat 4 jenis hormon timus, yaitu timosin alfa, timolin, timopoietin dan faktor humoral timus yang telah dapat disintesis melalui rekayasa genetika. Hormon timus memiliki kemampuan untuk memperbaiki gangguan fungsi sistem imun pada usia lanjut, kanker, autoimunitas dan kondisi immunosupresi akibat pengobatan. Pemberian bahan tersebut dapat meningkatkan jumlah, fungsi, dan reseptor sel T dan beberapa aspek imunitas seluler (Baratawidjaja, 1996).

b. Limfokin

Limfokin disebut juga interleukin atau sitokin yang dihasilkan oleh limfosit yang diaktifkan dan diduga memegang peranan penting dalam respon imun seluler. Beberapa jenis limfokin seperti interleukin-2 dan *tumor necrosis factor* (TNF) yang dihasilkan makrofag dapat menyembuhkan beberapa tumor pada tikus (Baratawidjaja, 1996).

c. Interferon (IFN)

Interferon terdiri dari 3 jenis yaitu alfa, beta dan gama. IFN alfa dibentuk oleh leukosit, beta dibentuk oleh sel fibroblas yang bukan limfosit dan gama atau interferon imun dibentuk oleh sel T yang diaktifkan. Semua jenis interferon dapat menghambat replikasi virus DNA dan RNA, sel normal dan sel ganas serta memodulasi sistem imun. Interferon dosis tinggi dapat menghambat proliferasi sel B dan sel T sehingga menurunkan respon imun selular dan humoral. Pada dosis rendah akan merangsang sistem imun dengan jalan meningkatkan aktivitas sel NK, makrofag, sel T dan pengaturan produksi antibodi. Efek samping pemberian interferon adalah sindrom flu (meriang, malaise dan mialgia), emesis, diare, dan leukopenia (Baratawidjaja, 1996).

d. Antibodi monoklonal

Antibodi monoklonal diperoleh dari sel yang dapat membentuk antibodi dan sel yang dapat hidup terus-menerus dalam biakan sehingga antibodi dapat dihasilkan dalam jumlah besar. Antibodi monoklonal dapat mengikat komplemen, membunuh sel tumor manusia dan tikus (Baratawidjaja, 1996).

e. Bahan asal bakteri

Bahan ini berasal dari bakteri dan bersifat imunostimulan, contohnya adalah mycobacterium *Bacillus Calmette Guerin* (BCG) hidup yang telah dilemahkan terbukti dapat mengaktifkan sel T, memperbaiki produksi limfokin dan mengaktifkan sel NK. BCG digunakan sebagai imunostimulan non-spesifik. Kuman *Clostridium parvum* mempunyai sifat mirip dengan BCG, digunakan sebagai imunostimulan non spesifik pada keganasan. Senyawa lainnya adalah endotoksin atau lipopolisakarida yang merupakan komponen dinding bakteri Gram negatif seperti *E.coli*, *Shigella* dan *Salmonella* yang dapat merangsang proliferasi sel B dan sel T serta mengaktifkan makrofag. Pemakaian endotoksin terbatas karena sifatnya yang imunogenik dan pirogenik.

f. Bahan asal jamur

Bahan yang dapat dihasilkan jamur seperti lentinan, krestin, glukon, *schizophyllan* dapat meningkatkan fungsi makrofag. Krestin dan lentinan telah banyak digunakan dalam pengobatan kanker sebagai imunostimulasi non spesifik.

2.3.2.2 Sintetik

a. Levamisol

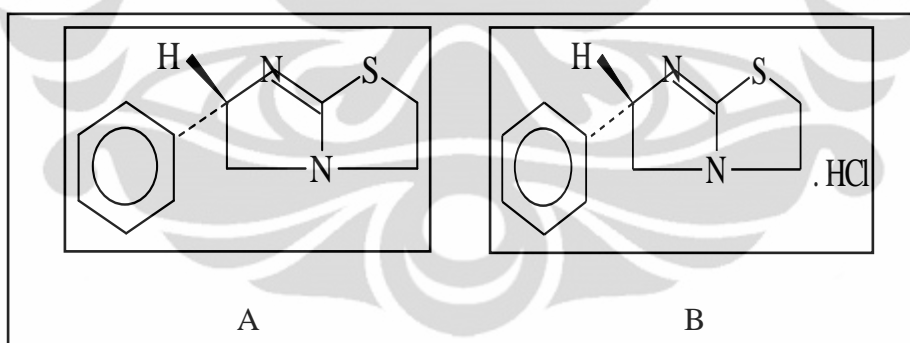
Levamisol merupakan derivat tetramizol, obat cacing terutama *Ascaris lumbricoides*, ditemukan mempunyai sifat imunostimulan yang menyebabkan peningkatan imun karena dapat meningkatkan proliferasi dan sitotoksisitas sel T serta mengembalikan energi pada beberapa penderita kanker.

Levamisol dapat meningkatkan efek berbagai bahan seperti antigen, mitogen, limfokin dan faktor kemotaktik untuk merangsang granulosit, makrofag dan limfosit terutama limfosit T bila hipersensitivitas lambat terganggu. Levamisol telah digunakan dalam penanganan artritis reumatoid, penyakit virus

Universitas Indonesia

dan lupus eritematosus sistemik. Dosis yang diberikan 2,5 mg/kg berat badan secara oral untuk dua minggu berturut-turut setiap hari dan sesudah itu, kalau perlu masih dapat diberikan beberapa hari dalam seminggu. Efek sampingnya mual, muntah, urtikaria, dan agranulositosis (Baratawidjaja, 1996; Katzung, 1995). Obat ini diabsorpsi dengan cepat dan memiliki kadar puncak 1-2 jam setelah diberikan dan waktu paruhnya kira-kira 4 jam.

Levamisol mempunyai rumus molekul $C_{11}H_{12}N_2S$; mempunyai berat molekul (BM) 204,3; merupakan serbuk putih hingga mendekati putih; sedikit larut dalam air dan mudah larut dalam alkohol dan metil alkohol. Levamisol dalam perdagangan adalah levamisol hidroklorida. Levamisol hidroklorida mempunyai rumus molekul $C_{11}H_{12}N_2S.HCl$; mempunyai berat molekul 240,8; merupakan serbuk kristal putih hingga mendekati putih; mudah larut dalam air, larut dalam metanol, praktis tidak larut dalam eter, dan sukar larut dalam metilen klorida (Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 2009; Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995a).



Keterangan : A = Levamisol

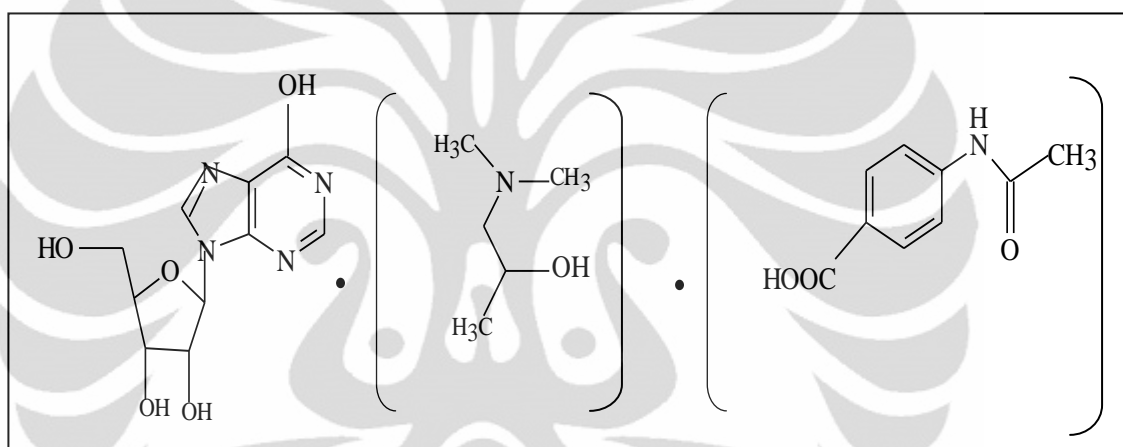
B = Levamisol hidroklorida

[Sumber: Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 2009]

Gambar 2.1. Struktur kimia levamisol dan levamisol hidroklorida

b. Isoprinosin

Isoprinosin atau inosiplex (ISO) atau metisoprinol adalah bahan sintesis yang mempunyai sifat antivirus dan juga meningkatkan proliferasi dan toksisitas sel T seperti halnya levamisol. ISO diduga membantu produksi limfokin (interleukin-2) yang berperan pada diferensiasi limfosit, makrofag, dan peningkatan fungsi sel NK. Dosis yang biasa diberikan adalah 50 mg/kg berat badan. Dosis dapat dinaikkan sampai 1-4 g/hari bila diperlukan. ISO telah dicoba diberikan selama dua tahun secara terus-menerus tanpa menimbulkan efek samping. Efek samping yang kadang-kadang ditemukan berupa peningkatan kadar asam urat plasma.

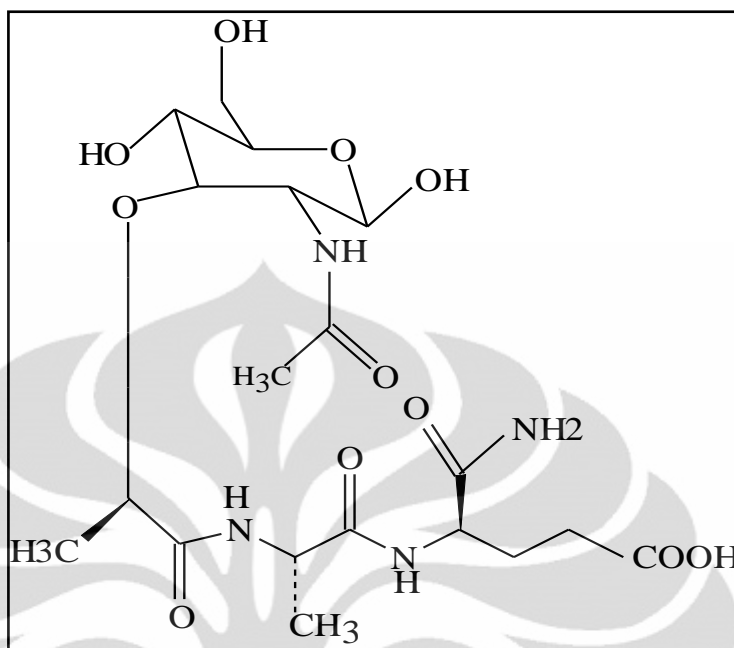


[Sumber : Merck Research Laboratories, 2006]

Gambar 2.2. Struktur kimia isoprinosin

c. Muramil dipeptida (MDP)

Muramil dipeptida merupakan komponen aktif terkecil dari dinding *mycobacterium*. Bahan tersebut dapat disintesis dan pada pemberian oral dapat meningkatkan sekresi enzim dan monokin. Efeknya adalah langsung dan tidak memerlukan limfokin atau pengaruh lain. Bila diberikan bersama minyak dan antigen, MDP dapat meningkatkan respon seluler dan humoral. MDP telah banyak digunakan sebagai adjuvan dengan vaksin pada pengobatan tumor untuk mencegah rekurens tumor dan infeksi.



[Sumber : Merck Research Laboratories, 2006]

Gambar 2.3. Struktur kimia muramil dipeptida

2.4 Darah

Darah terdiri dari sekitar 45% komponen sel dan 55% plasma. Komponen sel tersebut adalah sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), dan keping darah (trombosit). Sel darah merah berjumlah 99% dari total komponen sel dan 1% terdiri dari sel darah putih dan platelet. Plasma terdiri dari 90% air dan 10% sisanya dari protein plasma, elektrolit, gas terlarut, berbagai produk sampah metabolisme, nutrisi, vitamin, dan kolesterol (Corwin, 2009).

2.4.1. Eritrosit

Sel darah merah (eritrosit) tidak memiliki inti sel, mitokondria, atau ribosom. Eritrosit tidak dapat bereproduksi atau melakukan fosforilasi oksidatif sel atau sintesis protein. Eritrosit mengandung hemoglobin, yang mengangkut sebagian besar oksigen dari paru ke sel-sel di seluruh tubuh. Hemoglobin menempati sebagian besar ruang intrasel eritrosit. Sel darah merah diproduksi di

Universitas Indonesia

dalam sumsum tulang yang berespon terhadap faktor pertumbuhan hemopoietik, terutama eritropoietin, dan memerlukan zat besi, asam folat serta vitamin B₁₂ untuk melakukan sintesis (Corwin, 2009).

2.4.2. Leukosit

Sel-sel yang bertanggung jawab atas berbagai strategi pertahanan imun adalah leukosit (sel darah putih) dan turunannya. Leukosit merupakan unit yang aktif dari sistem pertahanan tubuh. Beberapa bagian limfosit dibentuk di sumsum tulang (granulosit, monosit, dan sedikit limfosit) dan di jaringan limfe (limfosit dan sel-sel plasma). Leukosit disalurkan secara khusus ke daerah yang terinfeksi dan mengalami peradangan serius, dalam hal ini leukosit menyediakan pertahanan yang cepat dan kuat terhadap setiap agen penginfeksi (Sherwood, 2001; Guyton dan Hall, 1996). Leukosit terbagi dalam dua kategori utama yang didasarkan pada gambaran nukleus dan ada tidaknya granula di sitoplasma yaitu granulosit polimorfonukleus dan agranulosit mononukleus.

2.4.2.1. Granulosit polimorfonukleus

Granulosit polimorfonukleus terdiri dari tiga jenis granulosit yaitu neutrofil, basofil, dan eosinofil.

a. Neutrofil

Neutrofil merupakan granula sitoplasma yang bereaksi dengan pewarna basa atau asam, menghasilkan granula “netral” atau ungu muda pada pewarnaan *Wright-Giemsa*. Neutrofil merupakan lini pertama pertahanan tubuh apabila terdapat jaringan yang rusak atau benda asing masuk kedalam tubuh. Neutrofil adalah spesialis fagositik yang sangat mudah bergerak dan memakan serta menghancurkan bahan-bahan yang tidak diperlukan (Sacher dan McPherson, 2004; Sherwood, 2001).

b. Eosinofil

Eosinofil adalah granulosit dengan nukleus berlobus dua dan granula yang cukup besar dimana memberikan warna merah pada pewarnaan asam eosin. Peningkatan eosinofil dikaitkan dengan keadaan alergi dan adanya parasit internal seperti cacing. Eosinofil melekat pada cacing dan mengeluarkan zat-zat kimiawi

yang menghancurkan cacing parasit (Sacher dan McPherson, 2004; Sherwood, 2001).

c. Basofil

Basofil memiliki granul yang besar, kasar, dan cenderung menyerap zat warna biru basa. Basofil dalam sirkulasi mirip dengan sel mast yang sebagian besar terletak pada bagian kulit, mukosa saluran napas, dan di jaringan ikat. Sel mast dan basofil melepaskan heparin ke dalam darah, yaitu suatu bahan yang dapat mencegah pembekuan darah.

Tipe antibodi yang menyebabkan alergi yaitu IgE mempunyai kecenderungan khusus untuk melekat pada sel mast dan basofil. Bila terdapat antigen spesifik yang bereaksi dengan antibodi maka akan menimbulkan pelekatan antigen pada antibodi yang menyebabkan sel mast dan basofil menjadi ruptur dan melepaskan histamin, bradikinin, serotonin, heparin, substansi anafilaksis yang bereaksi lambat dan sejumlah enzim lisosom yang menyebabkan reaksi alergi (Guyton dan Hall, 1996; Sherwood, 2001).

2.4.2.2. Agranulosit mononukleus

Agranulosit terdiri dari dua jenis yaitu monosit dan limfosit. Monosit dan limfosit keduanya memiliki sebuah nukleus besar tidak bersegmen dan sedikit granula. Monosit lebih besar daripada limfosit dan memiliki nukleus berbentuk oval atau seperti ginjal. Limfosit, leukosit terkecil, ditandai oleh nukleus bulat besar yang menempati sebagian besar sel (Sherwood, 2001).

Limfosit terdiri atas dua bagian yaitu limfosit B dan limfosit T. Limfosit B berubah menjadi sel plasma, yang mengeluarkan antibodi yang secara tidak langsung menyebabkan destruksi benda asing. Limfosit T berperan dalam imunitas yang diperantarai oleh sel (imunitas seluler) dengan melibatkan destruksi langsung sel-sel yang terinfeksi virus dan sel-sel mutan melalui cara-cara nonfagositik. Monosit berubah menjadi makrofag, yaitu spesialis fagositik yang berukuran besar dan terikat ke jaringan (Sherwood, 2001).

Pengukuran terhadap jumlah eritrosit, leukosit, dan jenis leukosit pada penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh suatu bahan uji terhadap efek hematopoetik. Penelitian umumnya menggunakan hewan uji tikus salah satunya

adalah galur *Sprague-Dawley* dan pada Tabel 2.2 dapat dilihat jumlah eritrosit, leukosit, dan jenis leukosit pada tikus normal galur *Sprague-Dawley*.

Tabel 2.2. Jumlah eritrosit, leukosit, limfosit, dan granulosit normal pada tikus *Sprague- Dawley*

Eritrosit ($10^3\text{sel}/\mu\text{l}$)	Leukosit ($10^3\text{sel}/\mu\text{l}$)	Limfosit ($10^3\text{sel}/\mu\text{l}$)	Granulosit ($10^3\text{sel}/\mu\text{l}$)		
			Neutrofil ($10^3\text{sel}/\mu\text{l}$)	Eosinofil ($10^3\text{sel}/\mu\text{l}$)	Basofil ($10^3\text{sel}/\mu\text{l}$)
6.26-8.96	9.40-14.9	6.80-10.72	0.06-3.45	0.03-0.06	0.00-0.02
			0.09-3.53		

[Sumber : Balkaya, Voyvoda, Unsal, and Celer, 2001]

2.4.3. Trombosit

Trombosit adalah fragmen sel yang berasal dari megakariosit besar di sumsum tulang. Trombosit berperan penting dalam hemostasis yaitu penghentian perdarahan dari pembuluh yang cedera. Tiga langkah utama pada hemostasis adalah spasme vaskuler, pembentukan sumbat trombosit, dan pembentukan bekuan. Spasme vaskuler mengurangi aliran darah melalui pembuluh yang cedera, sementara agregasi trombosit di tempat cedera pembuluh dengan cepat menambal sumbatan yang terjadi. Trombosit mulai berkumpul apabila berkontak dengan kolagen di dinding pembuluh yang rusak. Pembentukan bekuan (koagulasi darah) memperkuat sumbat trombosit dan mengubah darah di sekitar tempat cedera menjadi suatu gel yang tidak mengalir (Sherwood, 2001).

2.5 Organ limfoid

Organ limfoid adalah organ yang diperlukan untuk pematangan, diferensiasi dan proliferasi limfosit. Organ limfoid primer yaitu kelenjar timus dan *Bursa Fabricus* diperlukan untuk pematangan sel T dan B menjadi limfosit yang dapat mengenal antigen. Organ limfoid sekunder diperlukan untuk proliferasi dan diferensiasi limfosit yang sudah disensitisasi. Organ limfoid sekunder utama adalah limpa, kelenjar limfoid, dan *Peyer`s patches* yang tersebar di dinding saluran cerna, tonsil dan apendiks. Limpa adalah tempat utama respon imun terhadap imunogen dalam darah (Baratawidjaja, 1996). Pada dasarnya, darah

Universitas Indonesia

mengalir melalui limpa dan berkontak dengan sejumlah besar makrofag (leukosit fagositik) dan limfosit, yang memicu respon imun. Limpa mengandung dua jenis jaringan utama, yaitu pulpa merah dan putih. Pulpa merah berperan dalam destruksi eritrosit yang sudah tua, walaupun bagian ini juga mengandung makrofag, trombosit, limfosit (terutama limfosit B). Pulpa putih adalah jaringan limfoid padat yang tersusun mengelilingi arteriol sentral yang sering disebut sebagai selubung limfoid periarteriol (PALS) dan mengandung sel limfosit T dan B tersusun membentuk folikel-folikel dan agregat (Price dan Wilson, 2006).

2.6 Uji pemeriksaan sistem imun

Terdapat beberapa uji untuk menilai sistem imun, antara lain:

2.6.1 Titer antibodi

Uji titer antibodi ini berdasarkan uji hemaglutinasi. Hemaglutinasi merupakan cara untuk menemukan antibodi atas dasar aglutinasi sel darah merah. Sebagai antigen dapat digunakan sel darah merah sendiri atau antigen yang mensensitisasi sel darah merah. Antibodi adalah imunoglobulin yang merupakan golongan protein yang dibentuk oleh sel plasma dan berasal dari proliferasi sel B akibat adanya kontak dengan antigen. Titer antibodi yang tinggi menunjukkan bahwa sediaan uji dapat meningkatkan sistem imun (Hargono, Winarno, dan Werawati, 2000).

2.6.2 Uji fungsi neutrofil

Neutrofil merupakan fagosit yang melindungi tubuh terhadap berbagai jenis mikroorganisme, karena itu fungsi uji neutrofil merupakan parameter penting dalam menganalisis respon imun seluler non spesifik. Prinsip uji fungsi fagositosis adalah menganalisis jumlah neutrofil yang mengandung bakteri yang telah diberi label atau pengenalan. Untuk membedakan bakteri yang difagositosis oleh neutrofil dengan bakteri yang melekat pada permukaan sel dilakukan dengan mewarnainya dengan pewarna seperti *trypan blue*, *ethidium bromide*, atau kristal violet. Untuk uji fungsi neutrofil dapat digunakan leukosit yang telah dipisahkan terlebih dahulu dari sel-sel lain dengan larutan *Ficoll-Hypaque*.

Campuran darah dengan *Ficoll-Hypaque* di sentrifugasi dengan kecepatan tertentu, dan hal ini akan menghasilkan pemisahan antara leukosit dengan sel lainnya. Lapisan paling atas terdiri dari sel-sel mononuklear seperti limfosit dan monosit, dibawahnya terdapat lapisan sel polimorfonuklear, sedangkan eritrosit akan mengendap paling bawah. Tetapi uji ini juga dapat dilakukan tanpa memisahkan leukosit dari eritrosit terlebih dahulu. Setelah dilakukan inkubasi dengan bakteri berlabel, eritrosit dilisis dengan reagen lisis yang dapat menghancurkan eritrosit sekaligus bakteri yang melekat pada permukaan sel tanpa mengganggu bakteri yang telah difagositosis (Kresno, 2001).

2.6.3 Uji bersihan karbon

Uji bersihan karbon dilakukan dengan cara menyuntikkan karbon tinta ke dalam aliran darah untuk mengukur mekanisme fagositosis sel-sel retikuloendotelial. Dalam hal ini dipilih karbon tinta yang stabil dalam aliran darah dan tidak menyebabkan trombosis. Pada saat karbon tinta diinjeksikan secara intravena maka karbon akan difagositosis oleh makrofag. Setelah 12 jam penyuntikan karbon tinta, sampel darah dikumpulkan kemudian diukur perubahan konsentrasi tinta di dalam darah pada panjang gelombang 650 nm (Wagner and Jurcic, 1991).

2.6.4 Uji proliferasi limfosit

Uji proliferasi limfosit dilakukan untuk mengetahui apakah sel T dapat memberikan respon terhadap antigen. Sel yang berproliferasi akan memberikan peningkatan jumlah limfosit setelah beberapa jam disuntikkan antigen berulang (Wagner and Jurcic, 1991).

2.6.5 Reaksi hipersensitivitas tipe lambat

Reaksi tipe IV disebut juga reaksi hipersensitivitas tipe lambat, *Cell Mediated Immunity* (CMI), *Delayed Type Hypersensitivity* (DTH) atau reaksi tuberkulin yang timbul lebih dari 24 jam setelah tubuh terpapar dengan antigen. Reaksi ini diperantarai oleh kontak sel-sel T yang telah tersensitisasi dengan antigen yang sesuai. Akibat sensitisasi tersebut sel T melepaskan sitokin yang

Universitas Indonesia

menarik dan merangsang makrofag untuk membebaskan mediator-mediator peradangan. Metode ini berhubungan langsung dengan respon imun seluler, dimana limfosit T disensitisasi saat terjadi tantangan dengan antigen lalu mengubahnya menjadi limfoblas dan mensekresi limfokin, sehingga menarik sel-sel fagosit ke tempat terjadinya penyuntikan dan mendorong terjadinya reaksi inflamasi. Antigen yang sama akan diberikan lagi setelah beberapa waktu tertentu untuk melihat respon imun yang terjadi.

Antigen yang dapat mencetuskan reaksi tersebut dapat berupa mikroorganisme intraseluler (virus, *mycobacteri*), protein atau bahan kimia yang dapat menembus kulit dan bergabung dengan protein yang berfungsi sebagai *carrier*. Untuk reaksi Tipe IV diperlukan masa sensitisasi selama 1 sampai 2 minggu, yaitu untuk meningkatkan jumlah klon sel T yang spesifik untuk antigen tertentu. Antigen tersebut harus dipresentasikan terlebih dahulu oleh APC (*Antigen presenting cell*). Kontak yang berulang akan menimbulkan reaksi kelainan khas dari CMI (Baratawidjaja, 1996; Price dan Wilson, 2006).

Uji hipersensitivitas tipe lambat merupakan bagian dari proses imunitas terhadap tumor dan kekebalan terhadap infeksi mikroorganisme intraseluler, terutama yang menyebabkan penyakit kronik seperti tuberkulosis. DTH membutuhkan pengenalan spesifik dengan pemberian antigen yang akan mengaktifkan limfosit-T, kemudian berproliferasi dan mengeluarkan sitokin. Dalam hal ini, peningkatan permeabilitas vaskular, induksi vasodilatasi, aktivasi dan akumulasi makrofag, dapat meningkatkan aktivitas fagositosis dan konsentrasi enzim lisis untuk lebih efektif membunuh. Pada saat sekarang, penggunaan sel darah merah domba (SDMD) sebagai agen kimia pensensitisasi dikarenakan kombinasi dengan protein kulit memenuhi syarat sebagai antigen saat digunakan untuk mendapatkan reaksi hipersensitivitas kontak pada tikus (Kannan, Singh, Kumar, Jegatheswari, and Subburayalu, 2007).

2.7 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni (Departemen Kesehatan RI dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

2.8 Metode Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Sebagian ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan baku obat secara perkolasi. Seluruh perkolat biasanya dipekatkan secara destilasi dengan pengurangan tekanan, agar bahan sesedikit mungkin terkena panas (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995b).

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Struktur kimia yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat, dan derajat keasaman. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Beberapa metode ekstraksi antara

lain (Departemen Kesehatan RI dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000):

2.8.1 Cara Dingin

2.8.1.1 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.

2.8.1.2 Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2.8.2 Cara panas

2.8.2.1 Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

2.8.2.2 Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2.8.2.3 Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40⁰-50⁰C.

2.8.2.4 Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, suhu terukur 96-98⁰C) selama waktu tertentu (15 menit).

2.8.2.5 Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (≥ 30 menit) dan suhu sampai titik didih air.

2.9 Pengujian Terhadap Ekstrak

2.9.1 Rendemen (kadar ekstrak total)

Rendemen dihitung dengan membandingkan antara jumlah ekstrak kental yang diperoleh dengan jumlah serbuk simplisia awal.

2.9.2 Parameter non spesifik (Departemen Kesehatan RI dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000)

2.9.2.1 Kadar air

Pengukuran kandungan air yang berada di dalam bahan, dilakukan dengan cara yang tepat diantara cara titrasi, destilasi atau gravimetri. Tujuannya memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air di dalam bahan.

2.9.2.2 Kadar abu

Prinsipnya adalah bahan dipanaskan pada suhu dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sehingga unsur mineral dan anorganik yang tertinggal. Tujuannya memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak.

Universitas Indonesia

2.9.2.3 Parameter sisa pelarut

Prinsipnya adalah menentukan kandungan sisa pelarut tertentu (yang memang ditambahkan) yang secara umum dengan kromatografi gas, untuk ekstrak cair kandungan pelarutnya, misalnya kadar alkohol. Tujuannya memberikan jaminan bahwa selama proses tidak meninggalkan sisa pelarut yang memang seharusnya tidak boleh ada. Pada ekstrak cair menunjukkan jumlah pelarut (alkohol) sesuai dengan yang ditetapkan.

2.9.3 Parameter spesifik

Parameter spesifik yang dapat dilakukan adalah berdasarkan organoleptik. Prinsipnya adalah penggunaan pancaindera mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa. Bentuk (padat, serbuk-kering, kental, cair), warna (kuning, coklat, dan lainnya), bau (khas, tidak berbau), rasa (pahit, manis, kelat). Tujuannya sebagai pengenalan awal yang sederhana seobyektif mungkin.

2.9.3.1 Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu

Melarutkan ekstrak dengan pelarut (alkohol atau air) untuk ditentukan jumlah solut yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetri. Dalam hal tertentu dapat diukur senyawa terlarut dalam pelarut lain misalnya heksan, diklorometan, metanol. Tujuannya untuk memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan.

2.9.4 Uji kandungan kimia ekstrak

2.9.4.1. Identifikasi kandungan kimia

Uji ini dilakukan untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia secara kualitatif menggunakan pereaksi-pereaksi.

2.9.4.2. Kadar total golongan kandungan kimia

Dengan penerapan metode spektrofotometri, titrimetri, volumetrik, gravimetri atau lainnya, dapat diterapkan kadar golongan kandungan kimia. Tujuannya adalah memberikan informasi kadar golongan kandungan kimia

Universitas Indonesia

sebagai parameter mutu ekstrak dalam kaitannya dengan efek farmakologis (Departemen Kesehatan RI dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).



BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Fitokimia Departemen Farmasi FMIPA UI Depok selama lebih kurang 4 (empat) bulan yaitu dari bulan Februari sampai Mei 2011.

3.2 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah evaporator (Janke and Kunkel IKA LABOR Technik), alkoholmeter, tanur (Termolyne), pletismometer, timbangan analitik (Ohaus), timbangan hewan, spuit (Terumo), mikroskop, tabung K₃EDTA (Jim Kemp), *blood cell analyzer* (Medonic-M series), sentrifugator (Digisystem Lab Instrument), tube sentrifugasi, mikrotube dan alat-alat gelas.

3.3 Bahan

3.3.1 Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah umbi sarang semut jenis *Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M Perry yang didapat dari Wamena, Papua yang telah di determinasi LIPI Biologi, Cibinong (hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1) dan sebagai pembanding digunakan levamisol hidroklorida (Chongqing Medicines and Health).

3.3.2 Hewan Percobaan

Hewan yang digunakan dalam penelitian adalah tikus jantan galur *Sprague Dawley* sebanyak 25 ekor, berumur 3 bulan, dengan berat badan 150-250 gram yang diperoleh dari bagian Ruminansia dan satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

3.3.3 Bahan kimia

Sel darah merah domba (SDMD) yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi FKUI, akuades (teknis), larutan natrium klorida 0,9% (Otsu-NS),

Etanol 96% (teknis), serbuk seng (Merck), serbuk magnesium (Merck), asam klorida pekat (Merck), aseton (teknis), kloroform (Merck), isopropanol (Merck), natrium dihidrogen fosfat (Merck), dinatrium hidrogen fosfat (Merck), natrium sulfat anhidrat (Merck), natrium hidroksida (Merck), eter (teknis), CMC (penyalur Brataco Chemica), etanol 70% terdiri dari etanol 96% (teknis) sebanyak 20,4 L dan ditambahkan akuades hingga 28 L serta konsentrasi etanol diukur dengan alkoholmeter.

3.3.4 Pereaksi

Asam borat (Merck), asam oksalat (teknis), natrium klorida (Merck), gelatin (Merck), larutan besi (III) klorida (Merck), timbal (II) asetat (Merck), pereaksi Mayer LP, pereaksi Molisch, peraksi Bouchardat LP, Dragendorff LP, asam asetat anhidrat (Univar), asam sulfat (Merck), asam klorida (Merck).

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Pengumpulan dan penyediaan simplisia

Kulit luar dari umbi sarang semut dikupas dan umbi dibelah menjadi beberapa bagian. Semut-semut yang terdapat didalamnya dibersihkan. Belahan umbi tersebut dipotong menjadi beberapa bagian yang lebih kecil irisan. Potongan-potongan umbi tersebut dikeringkan dengan diangin-anginkan terlebih dahulu dan dikeringkan dengan oven pengering pada suhu 40°-60°C. Irisan digiling dengan blender, sampai menjadi serbuk. Serbuk yang didapat kemudian diayak dengan ayakan nomor 30 untuk mendapatkan serbuk yang seragam (Subroto dan Saputro, 2008).

3.4.2 Pembuatan ekstrak etanol tumbuhan sarang semut

Serbuk umbi sarang semut dimaserasi dengan etanol 70% dengan cara sebanyak 700 gram serbuk ditimbang kemudian dimasukkan dalam tiga bejana masing-masing berisi 200 gram, 250 gram dan 250 gram. Serbuk dimaserasi dengan perbandingan pelarut 1:10, sehingga masing-masing bejana dimaserasi dengan pelarut sebanyak 2 liter, 2,5 liter, dan 2,5 L untuk tiap kali maserasi. Maserasi dilakukan selama 24 jam, dengan pengadukan selama 6 jam pertama

kemudian didiamkan selama 18 jam, setelah itu dilakukan penyaringan dan filtrat dikumpulkan. Maserasi dilakukan sebanyak empat kali sampai filtrat berubah warna.

Filtrat yang diperoleh dari masing-masing bejana dikumpulkan lalu diuapkan menggunakan evaporator pada suhu 40-60°C sampai volume ekstrak tetap. Ekstrak yang diperoleh ditampung diuapkan dengan penangas air pada suhu 40-60°C sampai diperoleh ekstrak kental yang sudah sulit untuk dituang. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang.

3.4.3 Pengujian ekstrak etanol umbi sarang semut

3.4.3.1 Rendemen

Rendemen dihitung dengan membandingkan antara jumlah ekstrak kental yang diperoleh dengan jumlah serbuk simplisia awal.

3.4.3.2 Parameter non spesifik

a. Susut Pengerinan

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 g sampai 2 g dan dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang, ekstrak diratakan dalam botol timbang, dengan menggoyangkan botol, hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 mm sampai 10 mm. Jika ekstrak yang diuji berupa ekstrak kental, diratakan dengan bantuan pengaduk, kemudian dimasukkan ke dalam ruang pengering, buka tutupnya, dikeringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, botol dibiarkan dalam keadaan tertutup mendingin dalam eksikator hingga suhu kamar (Departemen Kesehatan RI dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

b. Kadar air

Penetapan kadar air menggunakan metode gravimetri. Ekstrak sebanyak 10 g dimasukkan dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara dan dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Pengeringan dan penimbangan dilanjutkan pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan

berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Departemen Kesehatan RI dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan , 2000).

c. Kadar abu

Lebih kurang 2 g sampai 3 g ekstrak yang telah digerus dan ditimbang saksama, dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, diratakan kemudian dipijarkan perlahan hingga arang habis, dinginkan, dan ditimbang. Jika cara ini arang tidak dapat dihilangkan, ditambahkan air panas, lalu disaring melalui kertas saring bebas abu. Dipijarkan sisa kertas dan kertas saring dalam krus yang sama. Filtrat dimasukkan ke dalam krus, diuapkan, dipijarkan hingga bobot tetap, kemudian ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Departemen Kesehatan RI dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan , 2000).

d. Penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 ml asam sulfat encer P selama 5 menit, dikumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, disaring melalui krus kaca masir atau kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, dipijarkan hingga bobot tetap, dan ditimbang. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Departemen Kesehatan RI dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan , 2000).

3.4.3.3 Parameter spesifik

Parameter spesifik yang dilakukan adalah pengamatan organoleptik ekstrak menggunakan panca indera dalam mendeskripsikan bentuk, bau, warna, dan rasa dari ekstrak etanol (Departemen Kesehatan RI dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

3.4.3.4 Uji kandungan kimia ekstrak

a. Identifikasi flavonoid (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995b)

Sebanyak 0,5 g ekstrak kental disari dengan 10 ml metanol selama 10 menit, disaring panas melalui kertas saring, diencerkan filtrat dengan 10 ml aquades. Saat dingin ditambahkan petroleum eter sebanyak 5 ml, kocok hati-hati,

diamkan. Lapisan metanol diambil dan diuapkan pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$. Sisanya dilarutkan dalam 5 ml etil asetat dan disaring. Filtrat yang didapat disebut larutan percobaan.

Sebanyak 1 ml larutan percobaan diuapkan hingga kering, sisanya dilarutkan dalam 1 ml sampai 2 ml etanol 95% P kemudian ditambahkan 0,5 g serbuk seng dan 2 ml asam klorida 2 N, didiamkan selama 1 menit lalu ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat P, jika dalam waktu 2 sampai 5 menit terjadi warna merah intensif, menunjukkan adanya flavonoid (glikosida-3-flavonol).

Sebanyak 1 ml larutan percobaan diuapkan hingga kering, sisanya dilarutkan dalam 1 ml etanol 95% P kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 10 tetes asam klorida pekat P. Jika terjadi warna jingga sampai merah ungu, menunjukkan flavonoid. Jika terjadi warna kuning jingga, menunjukkan adanya flavon, kalkon, dan auron.

Sebanyak 1 ml larutan percobaan diuapkan hingga kering, sisanya dibasahkan dengan aseton P, ditambahkan sedikit serbuk halus asam borat P dan asam oksalat. Secara hati-hati dipanaskan di atas penangas air dan dihindarkan pemanasan berlebihan. Sisa yang diperoleh dicampur dengan 10 ml eter P. Perubahan warna diamati dengan sinar UV 366 nm, adanya flavonoid ditunjukkan dengan fluoresensi kuning intensif.

b. Identifikasi tanin

Sebanyak 2 g ekstrak diuapkan diatas penangas air dan sisanya diencerkan dengan air suling panas lalu dikocok hingga homogen. Larutan ditambahkan dengan 5 tetes natrium klorida 10% dan disaring. Filtrat digunakan sebagai larutan percobaan.

Larutan percobaan ditambahkan gelatin 10% hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih. Larutan percobaan ditambahkan natrium klorida-gelatin. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih. Larutan percobaan ditambahkan larutan besi (III) klorida P, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan biru kehitaman atau hijau kehitaman. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995b; Farnsworth, 1966).

c. Identifikasi alkaloid

Tiga gram ekstrak dipekatkan di atas penangas air kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N. Filtrat di bagi menjadi lima bagian pada kaca arloji dan ditambahkan pereaksi Mayer LP, Bouchardat LP, Dragendorff LP. Pada penambahan Mayer LP, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan menggumpal berwarna putih atau kuning yang larut dalam metanol P, sedangkan dengan Bouchardat LP terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam. Penambahan Dragendorff LP memberikan hasil positif jika terbentuk endapan merah bata (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995b).

d. Identifikasi saponin

Sebanyak 3 g ekstrak ditambahkan 10 ml air suling panas, didinginkan kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1-10 cm, dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995b).

e. Identifikasi steroid dan terpenoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak diekstraksi dengan 10 ml eter lalu disaring. Filtrat yang diperoleh kemudian ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard yaitu asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (2:1). Jika terbentuk warna hijau atau biru menunjukkan adanya steroid sedangkan warna merah atau ungu menunjukkan triterpenoid (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995b; Farnsworth, 1966).

f. Identifikasi karbohidrat

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan 10 ml air suling panas, kemudian 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi. Larutan ekstrak ditambah 1 ml pereaksi Molish dan diaduk. Tabung dimiringkan dan dialirkan 1 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung sehingga tidak tercampur. Jika terbentuk cincin ungu pada perbatasan kedua lapisan menunjukkan adanya karbohidrat (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995b).

g. Identifikasi antrakuinon

Larutan ekstrak sebanyak 2 ml dipanaskan dengan 5 ml asam sulfat selama 1 menit, setelah dingin dikocok dengan 10 ml benzen. Warna kuning pada lapisan benzene menunjukkan adanya senyawa antrakuinon. Identifikasi dapat diperjelas dengan menambahkan larutan natrium hidroksida 2N, akan terjadi warna merah pada lapisan air (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995b).

h. Identifikasi glikosida

Sebanyak 3 g ekstrak disari dengan 30 ml campuran 7 bagian volume etanol (95%) P dan 3 bagian volume air dalam alat pendingin alir balik selama 10 menit, didinginkan dan disaring. Pada 20 ml filtrat ditambahkan 25 ml air dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok, lalu didiamkan selama 5 menit kemudian disaring. Filtrat disari tiga kali tiap kali dengan 20 ml campuran 3 bagian volume kloroform P dan 2 bagian volume isopropanol P. Pada kumpulan sari ditambahkan natrium sulfat anhidrat P, saring, dan diuapkan pada suhu tidak lebih dari 50°C. Sisanya dilarutkan dengan 2 ml metanol, larutan ini digunakan sebagai larutan percobaan.

Larutan percobaan sebanyak 1 ml diuapkan hingga kering, sisanya ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat P dan 1 tetes asam sulfat P. Hasil positif terbentuknya warna biru atau hijau. Jika terbentuk warna biru atau hijau menunjukkan adanya glikosida.

Sebanyak 0,1 ml filtrat diuapkan di penangas air. Residu yang terbentuk ditambahkan 2 ml air kemudian 5 tetes pereaksi Molisch dan ditambahkan asam sulfat pekat dengan hati-hati. Jika terbentuk cincin warna ungu pada batas cairan menunjukkan adanya ikatan gula (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995b).

3.4.4 Persiapan Bahan Uji

3.4.4.1 Pembuatan suspensi sel darah merah domba (SDMD)

Darah domba segar dipisahkan dari plasmanya dengan cara di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang didapat kemudian dibuang, lalu pelet SDMD yang tersisa dicuci dengan natrium klorida 0,9% sebanyak tiga kali (Aher and Wahi, 2010). Caranya adalah ditambahkan natrium

klorida 0,9% lalu dihomogenkan. Suspensi yang di dapat kemudian disentrifugasi kembali hingga supernatan yang didapat jernih. Setelah pencucian selesai, maka akan di dapat SDMD 100%. Tahap selanjutnya sel darah domba yang telah di cuci dibuat konsentrasinya menjadi 5% atau mengandung 1×10^9 sel darah merah/ml (MP, J, and N, 2011). Caranya yaitu ditambahkan natrium klorida 0,9% dengan volume sama, sehingga didapatkan SDMD 50%, kemudian diambil 5 ml dari SDMD 50%, lalu ditambahkan natrium klorida 0,9% sampai 50 ml sehingga didapat SDMD 5% sebanyak 50 ml. Berdasarkan penelitian sebelumnya, 1 ml SDMD 1% mengandung 2×10^8 sel darah merah/ml (Tripathi, Shahid, Khan, Khan, Siddiqui, and Khan, 2010; Hudson and Hay, 1980).

3.4.4.2 Pembuatan sediaan levamisol hidroklorida

Dosis levamisol hidroklorida berdasarkan penelitian sebelumnya adalah 50 mg/kg/hari. Dosis untuk tikus seberat 200 g adalah 10 mg per hari. Larutan levamisol hidroklorida untuk satu hari dibuat dengan cara mensuspensikan 66,67 mg levamisol hidroklorida dengan 20 ml larutan koloidal CMC 0,5% (MP, J, and N, 2011) (perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 3 dan Lampiran 4).

3.4.4.3 Pembuatan *Phosphate Buffered Saline* (PBS) pH 7,4

Natrium dihidrogen fosfat ditimbang sebanyak 0,8 g lalu dilarutkan dalam akuades dan ditimbang dinatrium hidrogen fosfat sebanyak 3,79 g kemudian dilarutkan akuades. Natrium klorida 2,2 g diimbang lalu dilarutkan dalam akuades, dicampur ketiga larutan tersebut dan ditambahkan akuades sampai volumenya 500 ml. Larutan diperiksa pHnya dengan pH meter sampai didapat pH 7,4 (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979).

3.4.5 Persiapan hewan uji

Hewan coba diaklimatisasi selama 2 (dua) minggu dengan tujuan mengadaptasikan hewan coba dengan lingkungannya yang baru. Pada tahap ini dilakukan pengamatan terhadap keadaan umum hewan coba, meliputi berat badan dan keadaan fisiknya. Tikus yang diikutsertakan dalam percobaan adalah

tikus yang sehat dengan ciri-ciri mata merah jernih, bulu tidak berdiri dan tidak terjadi penurunan berat badan.

3.4.6 Penetapan dosis

Dosis yang digunakan merupakan dosis empiris di masyarakat untuk pencegahan penyakit yaitu 20 g per minggu atau penggunaannya sebesar 2,86 g/hari. Dosis tersebut dijadikan dosis pertama dan dosis lainnya merupakan kelipatan dua dari dosis ini yaitu 5,72 g/hari dan 11,44 g/hari. Dosis yang digunakan untuk hewan uji didapat dengan mengalikan dosis-dosis tersebut dengan faktor konversi, faktor farmakokinetik, dan rendemen ekstrak yaitu sebesar 0,1962 g/200 g bb tikus/hari; 0,3924 g/200 g bb tikus/hari dan 0,7848 g/200 g bb tikus/hari (perhitungan penetapan dosis selengkapnya terdapat pada Lampiran 3 dan Lampiran 4).

3.4.7 Pelaksanaan penelitian

3.4.7.1 Pengelompokan tikus

Pada percobaan ini digunakan 25 ekor tikus yang telah di aklimatisasi, kemudian dibagi secara acak menjadi lima kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Jumlah tikus yang digunakan berdasarkan rumus Federer

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

Dimana: t = kelompok perlakuan = 5

n = jumlah sampel per kelompok perlakuan

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

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$n \geq \sim 4,75 \sim 5$$

Jadi jumlah minimum tikus yang digunakan dalam tiap kelompok adalah 5 ekor.

Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan

Kelompok	Perlakuan	Jumlah (ekor)
Kontrol negatif	Diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus	5
Kontrol positif	Diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%	5
Dosis I	Diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut dalam 0,1962 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%	5
Dosis II	Diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,3924 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%	5
Dosis III	Diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%	5

3.4.7.2 Pemberian bahan uji

Semua hewan diberikan perlakuan dari hari ke-1 sampai hari ke-14 secara oral dan diberikan antigen sel darah merah domba pada hari ke-8 secara intraperitoneal (Gupta, Shivaprasad, Kharya, and Rana, 2006).

3.4.7.3 Uji pengukuran jumlah sel darah putih, limfosit, dan granulosit

Pada hari ke-15 darah dikumpulkan, dengan cara tikus dianastesikan terlebih dahulu menggunakan eter kemudian darah diambil dari sinus orbital mata menggunakan mikrohematokrit lalu ditampung dalam tabung yang telah mengandung K₃EDTA. Total leukosit, limfosit dan granulosit dihitung dengan menggunakan *blood cell analyzer* (Medonic-M series) yang merupakan alat penghitung darah digital. Setelah darah diambil kemudian dilakukan uji DTH (MP, J, and N, 2011).

Pengukuran dari Medonic M-series menggunakan metode pengenceran. Jumlah sel untuk menentukan nilai leukosit dan eritrosit dihitung dari suspensi

rasio pengenceran 1:40.000 untuk eritrosit dan 1:400 untuk leukosit dari jumlah seluruh darah yang diukur (gambar alat dapat dilihat pada Gambar 4.6 dan Lampiran 5).

3.4.7.4 Uji reaksi hipersensitivitas tipe lambat / *Delayed Type Hypersensitivity*

(DTH)

Metode yang dilakukan adalah semua tikus diberikan perlakuan dari hari ke-1 sampai hari ke-14. Tikus diberikan 0,1 ml sel darah merah domba 5% yang mengandung 1×10^9 sel darah merah/ml secara intraperitoneal pada hari ke 8 dan secara subplantar pada kaki kiri pada hari ke-14. Pada hari ke-15 volume kaki kiri diukur sebelum diberikan tantangan antigen. Volume kaki kiri kemudian dikur dengan pletismometer pada jam ke-1, 2, 4, dan 24, kemudian di bandingkan dan dihitung persentase perubahan kaki (Gupta, Shivaprasad, Kharya, and Rana, 2006).

Hitung persentase perubahan kaki =

$$\frac{\text{Volume kaki kiri setelah diinduksi} - \text{volume kaki kiri sebelum diinduksi}}{\text{Volume kaki kiri setelah diinduksi}} \times 100\% \quad (3.1)$$

3.4.7.5 Penimbangan bobot limpa

Tikus dikorbankan dengan menggunakan eter, kemudian keempat kakinya diikat. Pada bagian dada dan perutnya dibasahi dengan alkohol 70%. Tikus dibedah dan limpa yang berada di sebelah kiri rongga perut dan berwarna merah kehitaman diambil dan dibersihkan dari lemak yang menempel. Limpa dimasukkan dalam larutan PBS pH 7,4 lalu ditimbang dengan timbangan analitik (Hudson and Hay, 1980).

Bobot limpa relatif =

$$\frac{\text{Bobot limpa}}{\text{Bobot badan}} \times 100\% \quad (3.2)$$

3.4.7.6 Penimbangan bobot badan

Penimbangan bobot badan dilakukan selama perlakuan hingga akhir perlakuan. Hal ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak terhadap metabolisme tikus (Hargono, Winarno, dan Werawati, 2000).

3.4.7.7 Analisis data

Data diolah secara statistik menggunakan SPSS 19. Analisis yang digunakan adalah uji distribusi normal (uji *Saphiro-Wilk*) dan uji homogenitas (uji *Levene*). Uji dilanjutkan dengan uji analisis varian satu arah (uji ANOVA) jika hasil analisis dinyatakan terdistribusi normal dan homogen. Apabila terdapat perbedaan bermakna maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (uji BNT).

Hasil analisis yang menyatakan data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen dilanjutkan dengan uji non parametrik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* atau uji *Mann-Whitney*.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pengumpulan dan penyediaan simplisia

Simplisia yang digunakan adalah bagian umbi. Simplisia yang didapat dibersihkan dengan air untuk memisahkan kotoran dan semut yang terdapat didalam umbi. Bagian umbi dipotong untuk memudahkan proses pengeringan dan pembuatan serbuk. Proses pengeringan dengan cara dianginkan terlebih dahulu kemudian dengan oven pengering pada suhu 40^o-60^oC bertujuan untuk mendapatkan pengeringan yang merata dan suhu yang tidak terlalu tinggi karena penggunaan suhu yang terlalu tinggi dan tidak stabil dapat menurunkan mutu karena merusak komponen senyawa yang terdapat didalamnya. Pengeringan juga bertujuan untuk menghentikan proses enzimatik dan mencegah timbulnya mikroba yang dapat merusak kandungan kimia.

4.2. Pembuatan ekstrak etanol umbi sarang semut

Pembuatan ekstrak etanol menggunakan metode maserasi dikarenakan pada penelitian sebelumnya uji efek imunostimulan dengan umbi sarang semut jenis *Myrmecodia pendens* dan *Myrmecodia tuberosa* dengan maserasi dan pelarut etanol, sehingga dikhawatirkan jika menggunakan metode ekstraksi berbeda akan mendapatkan hasil yang berbeda juga. Metode maserasi juga dipilih untuk mencegah rusaknya senyawa-senyawa yang tidak tahan pemanasan (Hertiani, Sasmito, Sumardi, and Ulfah, 2010). Maserasi dilakukan sebanyak empat kali karena pada maserasi sebanyak empat kali sudah terjadi perubahan warna dari hitam coklat kemerahan hingga berwarna coklat teh. Adanya perubahan warna dapat dianggap semua senyawa berbobot molekul rendah seperti saponin, tanin, triterpenoid, dan flavonoid telah terekstraksi (Harborne, 1996).

Pelarut etanol dipilih karena etanol memiliki kepolaran yang mendekati air sesuai penggunaannya di masyarakat. Pelarut etanol lebih aman dan tidak terlalu toksik dibandingkan metanol, karena ekstrak ini akan diujikan pada tikus selain itu etanol dapat menghambat berkembangnya mikroorganisme dibandingkan jika

digunakan pelarut air, dan memudahkan proses penguapan. Konsentrasi etanol yang dipilih adalah 70% dikarenakan adanya kemungkinan dalam umbi sarang semut jenis *Myrmecodia archboldiana* terdapat senyawa flavonoid, dan tanin seperti pada jenis *Myrmecodia pendens* yang berperan cukup besar dalam imunostimulan. Flavonoid dan tanin memiliki kelarutan yang cukup besar didalam pelarut yang polar (Robinson, 1995).

4.3. Pengujian ekstrak etanol sarang semut

4.3.1 Rendemen

Hasil ekstraksi dari serbuk simplisia sebanyak 700 g didapatkan ekstrak kental berwarna coklat hitam kemerahan seberat 266,8 g dan didapatkan nilai rendemen sebesar 38,11%. Perhitungan rendemen ini untuk menilai seberapa efisien dan efektif metode ekstraksi yang digunakan (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.4).

4.3.2 Parameter non spesifik

4.3.2.1 Susut Pengerinan

Susut pengerinan bertujuan untuk memberikan gambaran besarnya senyawa yang hilang pada proses pengerinan. Senyawa yang dimaksud tidak hanya air, namun juga sisa pelarut organik dan minyak atsiri. Hasil percobaan diperoleh nilai susut pengerinan rata-rata sebesar 78,81% (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.5).

4.3.2.2 Kadar air

Penetapan ini, bertujuan untuk memberikan gambaran besarnya kandungan air di dalam bahan. Hasil percobaan diperoleh kadar air rata-rata 76,93%. Nilai antara susut pengerinan dan kadar air yang cukup berbeda dapat diakibatkan adanya sisa-sisa pelarut organik yang tertinggal selama proses ekstraksi (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.6).

4.3.2.3 Kadar abu

Penetapan ini bertujuan memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Kadar abu total yang didapat rata-rata adalah 11,48% (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.7).

4.3.2.4 Penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam

Hasil percobaan untuk kadar abu yang tidak larut asam rata-rata sebesar 1,65% (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.8).

4.3.3 Parameter spesifik

Secara organoleptik bentuk ekstrak yang didapat adalah ekstrak kental berwarna coklat hitam kemerahan dengan bau khas seperti jamu dan memiliki rasa pahit agak sepat.

4.3.4 Uji kandungan kimia

Ekstrak yang didapat agak sukar larut dalam air dan hasil identifikasi kimia menunjukkan bahwa umbi sarang semut jenis *Myrmecodia archboldiana* mengandung senyawa tanin, saponin, triterpenoid, karbohidrat, flavonoid, dan glikosida. Pada pengujian glikosida hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin ungu menggunakan pereaksi Molisch yang berarti menandakan adanya ikatan gula dalam glikosida. Pengujian identifikasi tanin memberikan hasil positif warna hijau kehitaman dengan penambahan besi (III) klorida dan terdapat endapan coklat putih dengan penambahan gelatin 10% dan penambahan natrium klorida-gelatin.

Identifikasi saponin memberikan hasil positif dengan buih yang dihasilkan setinggi 3,3 cm. Pengujian steroid dan terpenoid dengan pereaksi Liebermann Burchard memberikan warna ungu kemerahan yang menandakan adanya senyawa triterpenoid. Pengujian terhadap karbohidrat memberikan hasil positif dengan terbentuknya cincin ungu dengan pereaksi Molisch yang menunjukkan umbi sarang semut ini memiliki senyawa karbohidrat. Pengujian untuk flavonoid memberikan hasil positif warna ungu kemerahan pada penambahan serbuk

magnesium dan asam klorida pekat dan memberikan fluoresensi pada panjang gelombang 366 nm, warna kuning kehijauan terang dengan penambahan asam borat dan asam oksalat serta eter (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.9).

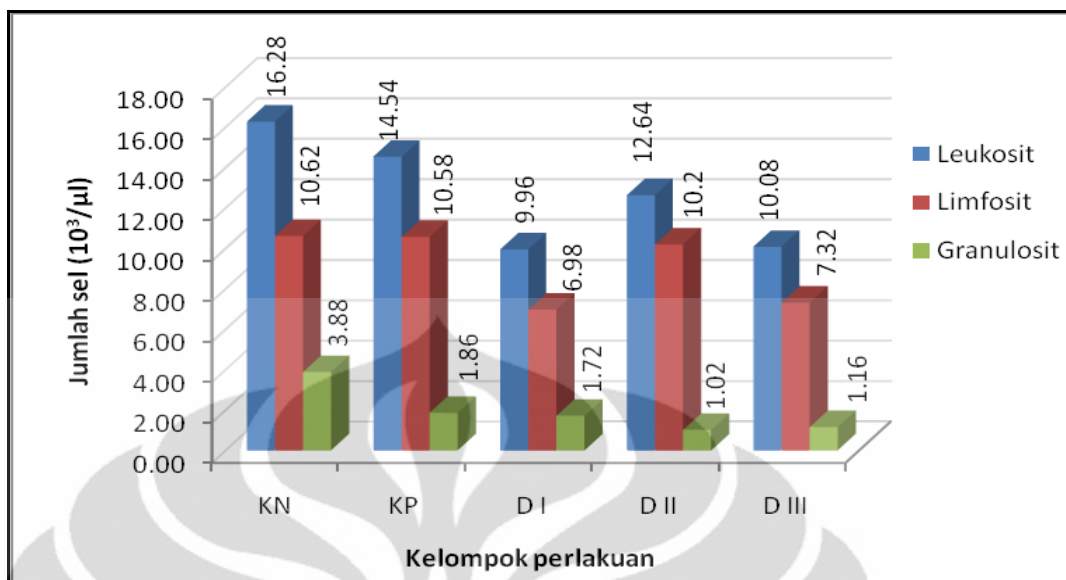
4.4. Uji pengukuran jumlah leukosit, limfosit dan granulosit

Pengukuran ini bertujuan untuk melihat kemampuan ekstrak etanol sarang semut *Myrmecodia archboldiana* dalam sistem hematopoetik yang berhubungan dengan sistem imunitas yaitu leukosit dan sel-sel jaringan yang berasal dari leukosit antara lain limfosit dan sel granulosit.

Tabel 4.1. Rata-rata jumlah leukosit, limfosit, dan granulosit pada setiap kelompok perlakuan

Perlakuan	Rata-rata \pm SD		
	Leukosit (10^3 sel/ μ l)	Limfosit (10^3 sel/ μ l)	Granulosit (10^3 sel/ μ l)
Kontrol negatif	16.28 \pm 3.59	10.62 \pm 1.91	3.88 \pm 1.92
Kontrol positif	14.54 \pm 2.36	10.58 \pm 1.57	1.86 \pm 0.41
Dosis I	9.96 \pm 2.32	6.98 \pm 0.74	1.72 \pm 1.58
Dosis II	12.64 \pm 5.07	10.20 \pm 4.53	1.02 \pm 0.29
Dosis III	10.08 \pm 1.44	7.32 \pm 1.27	1.16 \pm 0.43

Keterangan : Kontrol negatif : diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus; Kontrol positif : diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%; Dosis I, II, dan III masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,1962, 0,3924, dan 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%.



Keterangan : KN (Kontrol negatif): diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus; KP (Kontrol positif): diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%; D I (Dosis I), D II (Dosis II), dan D III (Dosis III) masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,1962, 0,3924, dan 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%.

Gambar 4.1 Grafik jumlah leukosit pada setiap kelompok perlakuan

4.4.1. Jumlah leukosit

Hasil penelitian menunjukkan jumlah leukosit pada kelompok dosis lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif. Rendahnya jumlah leukosit kemungkinan karena terjadi leukopenia atau penurunan jumlah sel darah putih sebagai efek samping dari pemberian ekstrak, selain itu memperlihatkan bahwa ekstrak tidak mampu meningkatkan leukosit sebanding dengan obat levamisol hidroklorida. Kelompok dosis apabila dibandingkan dengan nilai leukosit normal pada tikus galur *Sprague-Dawley* yaitu 9,40-14,9 10³sel/μl menunjukkan jumlah leukosit tergolong normal, kemungkinan karena jumlah leukosit telah kembali seperti semula setelah tujuh hari disuntikkan antigen sel darah merah domba, sehingga peningkatannya mungkin akan terlihat jelas apabila pengukuran jumlah leukosit ini dilakukan sebelum pemberian antigen dan segera setelah pemberian antigen kembali (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.10 dan Lampiran 6).

Pengujian secara statistik menyatakan bahwa kelompok dosis I dan dosis III memiliki perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol negatif

dan kontrol positif, namun pada kelompok dosis II tidak terdapat perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Hal ini kemungkinan akibat terdapat simpangan deviasi yang cukup besar disebabkan variasi biologis pada kelompok dosis II juga besar atau karena adanya sampel darah yang sudah membeku sehingga mengganggu pengukuran.

4.4.2. Jumlah limfosit

Kelompok dosis yang diberikan ekstrak menunjukkan jumlah limfosit yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif, kemungkinan karena ekstrak dapat menurunkan jumlah limfosit selain itu menggambarkan ekstrak tidak mampu meningkatkan jumlah limfosit sebanding dengan levamisol hidroklorida. Kelompok dosis apabila dibandingkan dengan jumlah limfosit normal pada tikus yaitu $6,80-10,72 \cdot 10^3$ sel/ μ l maka jumlah limfosit termasuk normal, hal ini kemungkinan karena jumlah limfosit kelompok dosis sudah kembali normal (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.10 dan Lampiran 7). Pengukuran akan lebih baik apabila dilakukan setelah dan sebelum penyuntikan antigen, karena peningkatan jumlah limfosit akan lebih jelas terlihat segera setelah penyuntikan antigen berulang mengingat limfosit memiliki kemampuan untuk mengenal dan memberikan reaksi terhadap benda asing misalnya pada uji proliferasi limfosit. Uji proliferasi limfosit dilakukan dengan cara setelah penyuntikan antigen berulang dimana limfosit yang diambil dari limpa segera dihitung (Hertiani, Sasmito, Sumardi, dan Ulfah, 2010).

Pengujian secara statistik menyatakan kelompok dosis I dan dosis III memiliki perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif, sedangkan pada kelompok dosis II tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Kelompok dosis II mempunyai standar deviasi yang besar disebabkan variasi biologis dari tikus yang juga besar, serta kemungkinan karena adanya sampel darah yang sudah membeku sehingga mengganggu saat pengukuran.

4.4.3. Jumlah granulosit

Hasil penelitian terhadap jumlah granulosit kelompok dosis yang diberikan ekstrak lebih rendah dibandingkan kontrol negatif kemungkinan karena adanya efek leukopenia mempengaruhi jumlah granulosit karena granulosit merupakan komponen dari leukosit. Jumlah granulosit kelompok dosis sedikit lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif, hal ini menggambarkan adanya kemampuan ekstrak meningkatkan jumlah granulosit mendekati obat levamisol hidroklorida. Dibandingkan dengan nilai normal granulosit pada tikus yaitu $0,09-3,53 \times 10^3 \text{ sel}/\mu\text{l}$ maka jumlah granulosit kelompok dosis termasuk normal, kemungkinan karena jumlah granulosit tikus sudah kembali seperti semula (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.10. dan Lampiran 8). Komponen utama dari granulosit adalah neutrofil karena neutrofil berperan penting dalam proses fagositosis dan jumlahnya paling banyak dalam granulosit, selain itu neutrofil akan segera memfagosit bahan dan senyawa asing seperti antigen. Pengujian statistik menyatakan kelompok dosis memiliki perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan dengan kelompok kontrol negatif, namun tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol positif ($p > 0,05$).

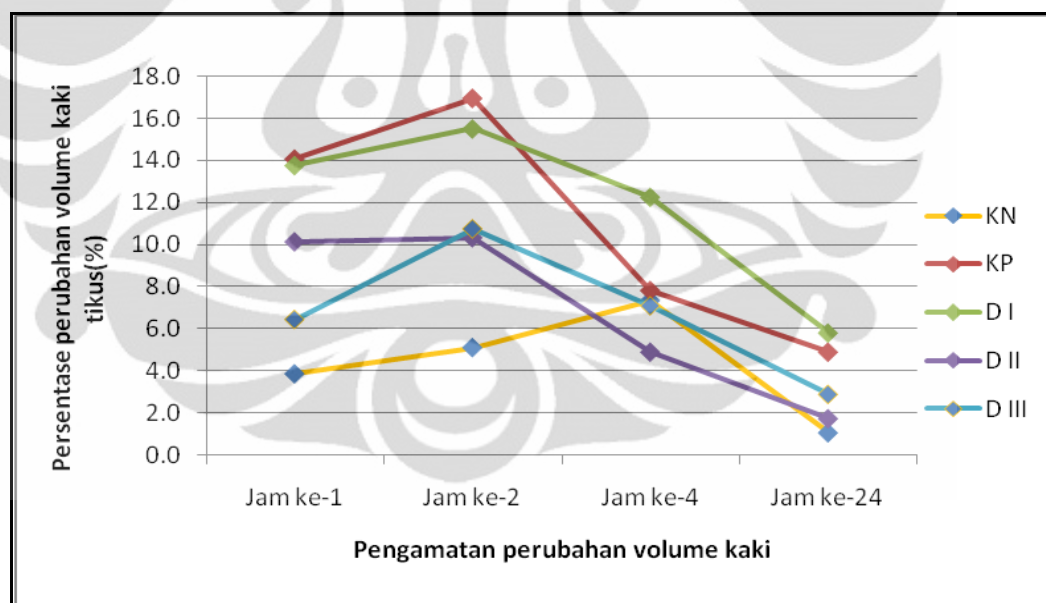
4.5. Uji reaksi hipersensitivitas tipe lambat / Delayed Type Hypersensitivity (DTH)

Pengujian reaksi hipersensitivitas tipe lambat dengan mengukur perubahan volume kaki diamati dari sebelum penyuntikan antigen dan jam ke-1, ke-2, ke-4, dan ke-24 setelah penyuntikan antigen dan menghitung persentase perubahan kaki. Hasil pengukuran volume kaki sebelum dan sesudah penyuntikan antigen dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan Gambar 4.2.

Tabel 4.2. Hasil pengukuran dan persentase perubahan volume kaki tikus rata-rata sebelum dan sesudah pemberian antigen

Kel.	Volume kaki sebelum tantangan	Jam ke-1		Jam ke-2		Jam ke-4		Jam ke-24	
		Volume (µl)	%	Volume (µl)	%	Volume (µl)	%	Volume (µl)	%
KN	24.1±2.7	25.1±3.2	3.85±2.53	25.4±2.9	5.10±1.48	26.2±4.3	7.34±5.17	24.4±2.8	1.04±0.89
KP	25.9±1.7	30.2±2.3	14.05±5.42	31.3±2.8	16.93±6.31	28.2±2.5	7.83±6.49	27.3±1.7	4.91±7.02
D I	24.1±3.7	28.0±4.3	13.77±5.37	28.6±4.8	15.51±3.37	27.5±3.9	12.26±6.98	25.5±3.0	5.80±5.42
D II	27.1±2.6	30.2±3.1	10.14±4.10	30.2±1.7	10.33±5.66	28.5±2.5	4.89±4.51	27.6±2.9	1.72±1.95
D III	23.5±1.9	25.1±1.5	6.45±3.35	26.3±1.3	10.74±3.82	25.3±1.8	7.10±4.52	24.2±1.8	2.9±1.25

Keterangan : KN (Kontrol negatif): diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus; KP (Kontrol positif): diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%; D I (Dosis I), D II (Dosis II), dan D III (Dosis III) masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,1962, 0,3924, dan 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%.



Keterangan : KN (Kontrol negatif): diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus; KP (Kontrol positif): diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%; D I (Dosis I), D II (Dosis II), dan D III (Dosis III) masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,1962, 0,3924, dan 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%.

Gambar 4.2 Persentase rata-rata perubahan volume kaki pada tikus yang disuntik sel darah merah domba.

4.5.1. Perubahan volume kaki jam ke-1

Pada jam ke-1 volume kaki tikus mulai meningkat menandakan proses peningkatan imunitas sudah dimulai. Kelompok dosis yang diberikan ekstrak memberikan peningkatan volume kaki lebih besar dibandingkan dengan kontrol negatif, namun lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif. Kelompok dosis I menunjukkan peningkatan volume kaki paling tinggi dan kelompok dosis III menunjukkan peningkatan volume kaki paling rendah. Hasil penelitian kelompok dosis menunjukkan semakin tinggi dosis ekstrak maka efek imunostimulan semakin rendah. Hal ini mungkin disebabkan karena efek maksimal ekstrak etanol *Myrmecodia archboldiana* memang terdapat pada dosis I yaitu sebesar 0,1962 g/200 g bb (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.11 dan Lampiran 9).

Peningkatan dosis tidak disertai peningkatan efek imun dimungkinkan karena seluruh reseptor limfosit T telah diduduki oleh senyawa aktif dalam ekstrak sehingga dosis ekstrak yang terlalu besar memungkinkan banyaknya senyawa aktif yang bebas dan tidak berikatan dengan reseptor, sehingga berpotensi untuk mengganggu senyawa yang telah terikat dengan reseptor karena ikatan obat reseptor biasanya merupakan ikatan yang lemah sehingga mudah digeser akibatnya efek imun yang dihasilkan tidak maksimal (Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2007). Pengujian statistik menunjukkan peningkatan volume kaki kelompok dosis I dan dosis II berbeda bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol negatif, tetapi tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol positif ($p > 0,05$). Hal ini menggambarkan bahwa pemberian ekstrak sampai dosis sebesar 0,3924 g/200 g bb memiliki kemampuan sebagai imunostimulan mendekati efek obat levamisol hidroklorida.

4.5.2. Perubahan volume kaki jam ke-2

Hasil penelitian memperlihatkan peningkatan volume kaki dari jam ke-2 lebih besar dibandingkan waktu pengukuran lainnya. Kelompok dosis yang diberikan ekstrak memberikan peningkatan volume kaki lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol negatif, namun lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif. Kelompok dosis I memiliki peningkatan volume kaki paling besar sedangkan

kelompok dosis III memberikan peningkatan volume kaki paling kecil yang menggambarkan semakin besar dosis ekstrak tidak disertai dengan peningkatan efek imun, hal ini sejalan dengan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya (Bafna and Mishra, 2010). Pengujian statistik menunjukkan antara kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok dosis I, namun tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kelompok dosis II dan III serta kelompok dosis tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menggambarkan pada jam ke-2 terjadi peningkatan imun seluler paling besar yang dapat dicapai oleh dosis I sebesar 0,1962 g/200 g bb dan memiliki kemampuan meningkatkan sistem imun sebanding obat levamisol hidroklorida (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.12 dan Lampiran 10).

4.5.3. Perubahan volume kaki jam ke-4

Pada jam ke-4 peningkatan volume kaki sudah menurun dibandingkan dengan jam ke-2, menandakan kondisi volume kaki yang mulai kembali seperti semula. Peningkatan volume kaki kelompok dosis lebih rendah dibandingkan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif, kecuali pada kelompok dosis I perubahan volume kaki lebih besar. Penelitian ini menunjukkan pada jam ke-4 telah terjadi penurunan efektifitas dari pemberian ekstrak maupun obat levamisol hidroklorida. Kelompok dosis I pada jam ke-4 memperlihatkan efek peningkatan sistem imun yang masih tinggi, bahkan lebih tinggi dibandingkan dengan levamisol hidroklorida (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.13 dan Lampiran 11). Rendahnya peningkatan volume kaki pada kontrol positif yang diberikan obat levamisol hidroklorida, dapat disebabkan karena kadar puncak levamisol 1-2 jam dan waktu paruh dari levamisol sekitar 4 jam sehingga pada kondisi tersebut kadarnya sudah meluruh setengah dan efeknya pun menurun (Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2007). Pengujian statistik menyatakan tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) antara semua kelompok dosis dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif, menandakan peningkatan volume kaki atau peningkatan sistem imun tetap ada namun tidak dalam jumlah banyak.

4.5.4. Perubahan volume kaki jam ke-24

Perubahan volume kaki pada jam ke-24 untuk melihat reaksi hipersensitivitas yang berlangsung lambat. Hasil penelitian menunjukkan peningkatan volume kaki jam ke-24 lebih rendah dibandingkan jam ke-2. Peningkatan volume kaki kelompok dosis lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif, namun lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol positif kecuali pada kelompok dosis I. Peningkatan volume kaki kelompok dosis I pada jam ke-24 lebih besar dibandingkan kontrol positif, kemungkinan karena waktu paruh levamisol hidroklorida yaitu pada jam ke-4 (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.14 dan Lampiran 12).

Hasil penelitian menunjukkan peningkatan volume kaki paling besar terjadi pada jam ke-1 sampai jam ke-2, hal ini berbeda dengan beberapa jurnal penelitian dimana reaksi hipersensitivitas tipe lambat berlangsung antara jam ke-12 sampai jam ke-24 (Fulzele, Satturwar, Joshi, and Dorle, 2003; Kannan, Singh, Kumar, Jegatheswari, and Subburayalu, 2007). Berdasarkan teori reaksi hipersensitivitas tipe lambat (tipe IV), peningkatan volume kaki tidak terjadi selama 6-12 jam dan mencapai intensitas maksimal sesudah 24-72 jam (Bellanti, 1993). Peningkatan volume kaki yang lebih cepat kemungkinan karena telah terjadi reaksi hipersensitivitas tipe I atau reaksi arthus (tipe III) disebabkan pencetus awal dari hipersensitivitas tipe lambat yang sering diikuti oleh respon imun humoral, selain itu jumlah antigen yang lebih besar dapat merangsang pembentukan antibodi sedangkan dosis sensitisasi antigen yang lebih kecil biasanya lebih berhasil dalam pembentukan hipersensitivitas tipe lambat (Bellanti, 1993).

Pengujian statistik menyatakan peningkatan volume kaki kelompok dosis tidak berbeda bermakna ($P > 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif, sehingga dapat diartikan pemberian ekstrak dapat meningkatkan imunitas namun jumlahnya sedikit. Peningkatan volume kaki tikus pada berbagai jam menandakan bahwa ekstrak *Myrmecodia archboldiana* dapat meningkatkan sistem imun, hal ini dapat dikarenakan kandungan senyawa yang terdapat didalamnya yang meliputi flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan karbohidrat memiliki aktivitas imunostimulan (Wagner, 1999).

4.6. Perbandingan bobot relatif limpa

Pengujian terhadap bobot relatif limpa dilakukan karena limpa adalah organ yang memproduksi limfosit, sehingga diperkirakan kerja limpa yang lebih berat dalam memproduksi sel-sel limfosit dapat memperbesar ukuran limpa (Hargono, Winarno, dan Werawati, 2000).

Tabel 4.3. Rata-rata bobot relatif limpa tikus

Perlakuan	Rata-rata \pm SD		
	Bobot badan (gram)	Bobot limpa (gram)	Bobot limpa relatif (%)
Kontrol negatif	190.360 \pm 6.878	1.455 \pm 0.417	0.765 \pm 0.224
Kontrol positif	184.998 \pm 27.510	1.281 \pm 0.319	0.636 \pm 0.105
Dosis I	180.811 \pm 24.852	1.236 \pm 0.319	0.612 \pm 0.105
Dosis II	182.671 \pm 60.617	1.182 \pm 0.277	0.572 \pm 0.119
Dosis III	180.550 \pm 11.546	1.157 \pm 0.367	0.566 \pm 0.183

Keterangan : Kontrol negatif : diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus; Kontrol positif : diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%; Dosis I, II, dan III masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,1962, 0,3924, dan 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%.



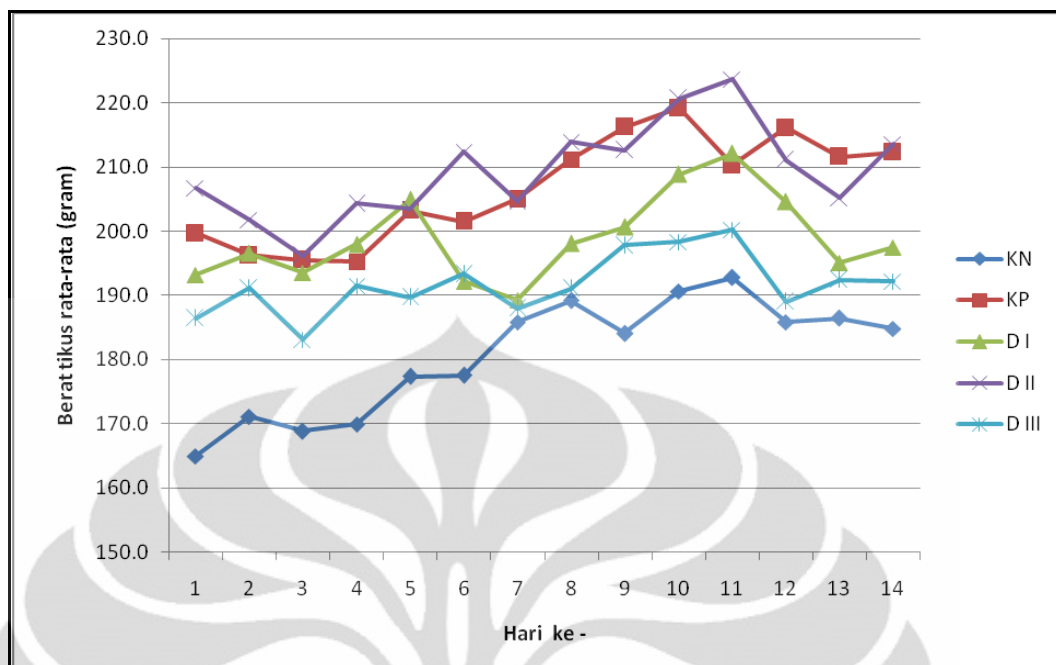
Keterangan : KN (Kontrol negatif): diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus; KP (Kontrol positif): diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%; D I (Dosis I), D II (Dosis II), dan D III (Dosis III) masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,1962, 0,3924, dan 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%.

Gambar 4.3 Diagram batang bobot relatif limpa pada berbagai kelompok

Hasil penelitian menggambarkan bahwa kelompok dosis memiliki rata-rata bobot relatif limpa lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif. Berdasarkan hal tersebut dapat dinyatakan bahwa penggunaan ekstrak etanol umbi sarang semut *Myrmecodia archboldiana* tidak memberikan pengaruh terhadap bobot relatif limpa dan dapat dihubungkan dengan jumlah rata-rata limfosit yang relatif rendah. Pengujian statistik menyatakan bobot relatif limpa kelompok dosis tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) dibandingkan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.15 dan Lampiran 13). Hasil ini dapat diakibatkan karena pengamatan dilakukan 48 jam setelah pemberian sediaan uji sehingga efek dari sediaan uji telah turun akibat eliminasi dari tubuh tikus

4.7. Perbandingan berat badan

Pengamatan bobot hewan coba bertujuan untuk mengetahui sediaan uji yang digunakan mempengaruhi metabolisme hewan uji atau tidak (Hargono, Winarno, dan Werawati, 2000). Data pengamatan dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Keterangan : KN (Kontrol negatif): diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus; KP (Kontrol positif): diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%; D I (Dosis I), D II (Dosis II), dan D III (Dosis III) masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,1962, 0,3924, dan 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%.

Gambar 4.4. Grafik berat badan tikus rata-rata selama perlakuan

Pada kelompok dosis terjadi perubahan berat badan yang beragam namun secara keseluruhan kelompok dosis mengalami peningkatan bobot badan dari awal perlakuan hingga akhir perlakuan. Hal ini dapat diakibatkan karena kondisi biologis dan fisiologis dari tikus yang berbeda-beda. Pengamatan ini menandakan bahwa pemberian ekstrak tidak mempengaruhi berat badan tikus (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.16).

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi sarang semut *Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M. Perry dosis 0,1962 g/200 g bb memiliki aktivitas imunostimulan berdasarkan peningkatan volume kaki jam ke-2 setara dengan levamisol hidroklorida pada uji hipersensitivitas tipe lambat, namun tidak meningkatkan jumlah leukosit, limfosit, granulosit, dan bobot relatif limpa.

5.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian imunostimulan dengan mengisolasi senyawa yang terdapat didalam *Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M. Perry untuk kemudian dibandingkan efektivitasnya sebagai imunostimulan dan dilakukan uji efek imunostimulan dengan metode lain seperti proliferasi limfosit.

DAFTAR ACUAN

- Aher, V. D., and Arunkumar, W. (2010). Pharmacological study of *tinospora cordifolia* as an immunomodulator. *International Journal Of Current Pharmaceutical Research*, 2, 4, 52-54.
- Alam, S., dan Waluyo, S. (Juli, 2006). *Sarang Semut Primadona Baru Dari Papua*. Nirmala., 76-78
- Arnold Arboretum of Harvard University. (1968). *Journal of The Arnold Arboretum Harvard University* (Vol. XXVI). New York: Karus Reprint.
- Bafna, A., and Mishra, S. (2010). Antioxidant and immunomodulatory activity of the alkaloidal fraction of *Cissampelos pareira* Linn. *Scientia Pharmaceutica*, 78, 21-31.
- Balkaya, M., Voyvoda, H., Unsal, C., and Celer, H. (2001). *Some hematological and biochemical characteristic of male and female Sprague-Dawley Rats* [Review of the book Clinical biochemical and hematological reference values for long-evans rats]. <http://www.veteriner.istanbul.edu.tr>. (30 Juni.2011, pukul 19.00)
- Baratawidjaja, K. G. (1996). *Imunologi Dasar*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Bellanti, AJ. (1985). *Imunologi III*. Jakarta: Gajah Mada University Press.
- Corwin, E. J. (2009). *Buku saku patofisiologi* (Egi Komara, Esty Wahyuningsuh, Devi Yulianti, dan Pamilih Eko Karyuni, Penerjemah) . Jakarta: EGC.
- Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: Bab 1 dan Bab 48. (2007). *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Gaya Baru.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979). *Farmakope Indonesia ed III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia.(1995a). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Depatemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia.(1995b). *Materia Medika Indonesia Edisi VI*. Jakarta: Depatemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Departemen Kesehatan RI dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Farnsworth, N.R. (1966). Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55(3), 225-276.
- Fulzele, S. V., Satturwar, P. M., Joshi, S. B., and Dorle, A. K. (2003). Study of The Immunomodulatory Activity of Haridradi Ghrita In Rat. *Indian Journal of Pharmacology*, 35, 51-54.
- Gupta, M. S., Shivaprasad, H. N., Kharya, M. d., and Rana, A. C. (2006). Immunomodulatory Activity of The Ayurvedic Formulation "Ashwagandha Churna". *Pharmaceutical Biology*, 44 (4), 263-265.
- Guyton, A. C dan Hall, J. E., (1996). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* (Irawati Setiawan, LMA Ken Ariata Tengadi, Alex Santoso, Penerjemah). Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Harborne, J. B. (1996). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerjemah). Bandung: ITB
- Hargono, D., Winarno, M. W., dan Werawati, A. (2000). *Pengaruh Perasan Daun Ngokilo (Gynura procumbens Lour. Merr) terhadap aktivitas Sistem Imun Mencit Putih*. <http://www.kalbe.co.id> (6 Juni. 2011, pukul 17.00)
- Hertiani, T., Sasmito, E., Sumardi, and Ulfah, M. (2010). Preliminary Study on Immunomodulatory Effect of Sarang-Semut Tubers *Myrmecodia tuberosa* and *Myrmecodia pendens*. *Online Journal of Biological Science*, 10 (3), 136-141.
- Hudson, L., dan Hay, F. C. (1980). *Practical Immunology*. London: Blackwell Scientefic Publication.
- Jones, S. B., and Luchsinger, A. B. (1987). *Plant Systematics*. Singapore: McGraw-Hill Book Co.
- Kannan, M., Singh, A. R., Kumar, T. A., Jegatheswari, P., and Subburayalu, S. (2007). Studies on Immuno-bioactivities of *Nyctanthes arbortristis* (Oleaceae). *African Journal of Microbiology Research*, 1 (6), 088-091.
- Katzung, B. G. (1998). *Farmakologi Dasar dan Klinik* (Staf dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Penerjemah). Jakarta : Buku Kedokteran EGC.
- Kresno, S. B. (2001). *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium Edisi Keempat*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

- Kristina, D. (2008). *Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Umbi Sarang Semut (Myrmecodia pendens Merr. & Perry) Pada Tikus (Rattus norvegicus L.)*. Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.
- MP, S., J, A., and N, M. (2011). Evaluation Of Immunomodulatory Activity of Aqueous Extracto of Ficus bengalensis aerial Roots In Wistar Rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinic Research* , 4 (1), 82-86.
- Merck Research Laboratories.(2006). *The merck index an encyclopedia of chemical, drugs, and biological* (14th ed.). USA: Merck
- Petrunov, B., Nenkov, p., and Shekerdjiisky, R. (2007). *The Role Of Immunostimulants In Immunotherapy And Immunoprophylaxis*. Bulgaria: National Center of Infectious and Parasitic Disease, BulBio-NCIPD, Natsim Ltd.
- Price, S. A., dan Wilson, L. M. (2006). *Patofisiologi Konsep Klinik Proses-Proses Penyakit* (Brahm U Pendit, Huriawati Hartanto, Pita Wulansari, dan Dewi Asih Mahanani). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan organik tumbuhan tinggi* (Kosasih Padmawinata, Penerjemah). Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Royal Pharmaceutical Society of Great Britain.(2009). *Martindale The Complete Drug Reference* (36th ed.). London: Pharmaceutical Press.
- Sacher, R. A., dan McPherson, R. A. (2004). *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium* (Brahm U Pendit dan Dewi Wulandari, Penerjemah). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sherwood, L. (2001). *Fisiologi Manusia Dari Sel Ke Sistem* (Brahm U Pendit, Penerjemah). Jakarta : EGC
- Simanjuntak, P., Fanny, dan Subroto, M. A. (2010). Isolasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Hipokotil Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perry) Sebagai Penghambat Xantinoksidase. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* , 8 (1), 49-54.
- Soeksmanto, A., Subroto, M. A., Wijaya, H., and Simanjuntak, P. (2010). Anticancer Activity Test for Extracts of Sarang Semut Plant (*Myrmecodia pendens*) to HeLa and MCM-B2 Cells. *Pakistan Journal of Biological Science* , 13(3), 148-151.
- Sriningsih, dan Wibowo, A. E. (2009). Efek Imunostimulan Meniran (*Phyllanthus niruri* L) Secara In Vivo Pada Tikus. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 7(1), 15-18.

- Subroto, M. A., dan Saputro, H. (2008). *Gempur Sarang Semut*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Suhirman, S., dan Winarti, C. (n.d.). *Prospek Dan Fungsi Tanaman Obat Sebagai Immunomodulator*. <http://balittro.litbang.deptan.go.id>. (Januari 16.2011, pukul 16.00).
- Tjitrosoepomo, G. (1991). *Taksonomi tumbuhan spermatophyta*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Tripathi, T., Shahid, M., Khan, H. M., Khan, A. A., Siddiqui, M., and Khan, R. A. (2010). In vivo Study of Histamine H3-Receptor in Immunomodulation. *World Applied Science Journal* , 9(11), 1213-1222.
- Trustees of The Royal Botanic Gardens, Kew. (1997). *Index kewensis 2.0*. UK: Oxford University Press.
- Wagner, H. (1999). *Immunomodulatory Agents from Plant*. Jerman: Birkhauser Verlag.
- Wagner, H., and Jurcic, K. (1991). Assay for immunomodulation and effect on mediators of inflammation. In *Methods in plant biochemistry* (Vol. 6, p. 201). Munich: Academic Press.
- Wahab, A. S., dan Julia, M. (2002). *Sistem Imun, Imunisasi, dan Penyakit Imun*. Jakarta: Widya Medika.
- Weir, D. M. (1996). *Imunologi Dasar*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Wijaya, H. (2007). *Isolasi, Identifikasi Dan Uji Bioaktivitas Senyawa Kimia Antikanker Dari Tumbuhan Sarang Semut, Mymecodia Pendens (Rubiaceae)*. Tesis Master Sains, Universitas Indonesia.





[Sumber : LIPI Biologi]

Gambar 4.5 Tanaman *Myrmecodia archboldiana* Merr. & L.M Perry



Gambar 4.6. Alat dan tampilan layar *Medonic M-Series*



Tabel 4.4. Rendemen ekstrak etanol umbi sarang semut *Myrmecodia archboldiana* Merr & L.M. Perry

Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
700,0	266,8	38,11

Tabel 4.5. Susut pengeringan

Berat ekstrak awal (g)	Berat ekstrak akhir (g)	Susut pengeringan (%)	Rata-rata ± SD (%)
1,8264	0,3867	78,83	78,81 ± 0,08
1,2815	0,2727	78,72	

Tabel 4.6. Kadar air

Berat ekstrak awal (g)	Berat ekstrak akhir (g)	Susut pengeringan (%)	Rata-rata ± SD (%)
5,1440	1,1958	76,75	76,93 ± 0,25
5,3050	1,2145	77,11	

Tabel 4.7. Kadar abu total

Berat ekstrak awal (g)	Berat ekstrak akhir (g)	Bobot abu total (g)	Kadar abu total (%)	Rata-rata ± SD (%)
2,0772	1,8164	0,2608	12,56	11,48 ± 1,53
2,0641	1,8494	0,2147	10,40	

Tabel 4.8. Kadar abu yang tidak larut dalam asam

Berat ekstrak awal (g)	Berat ekstrak akhir (g)	Bobot abu tidak larut asam (g)	Kadar abu total (%)	Kadar abu rata-rata ± SD (%)
2,0772	2,0389	0,0383	1,84	1,65 ± 0,27
2,0641	2,0340	0,0301	1,46	

Tabel 4.9. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol umbi sarang semut

Myrmecodia archboladiana

No	Identifikasi	Ekstrak 1	Ekstrak 2
1	Flavonoid Reduksi Zn Reduksi Mg Asam borat-oksalat	- + +	- + +
2	Tanin gelatin 10% FeCl ₃ NaCl-gelatin	+ + +	+ + +
3	Alkaloid Mayer LP Dragendorf LP Bouchardat L	- - -	- - -
4	Saponin	+	+
5	Steroid / triterpenoid Liebermann-Bouchard	- / +	- / +
6	Glikosida Liebermann-Bouchard Molisch	- +	- +
7	Antrakuinon	-	-
8	Karbohidrat	+	+

Tabel 4.10. Hasil pengukuran jumlah leukosit, limfosit dan granulosit

Perlakuan	Ulangan	Leukosit (10 ³ sel/ μ l)	Limfosit (10 ³ sel/ μ l)	Granulosit (10 ³ sel/ μ l)
Kontrol negatif	1	21.60	13.60	6.40
	2	15.90	10.60	4.10
	3	11.50	8.60	1.20
	4	16.50	10.90	4.60
	5	15.90	9.40	3.10
	Rata-rata \pm SD	16.28 \pm 3.59	10.62 \pm 1.91	3.88 \pm 1.92
Kontrol positif	1	18.10	12.90	2.40
	2	12.30	8.90	1.50
	3	16.60	11.90	2.30
	4	13.20	10.10	1.40
	5	12.50	9.10	1.70
	Rata-rata \pm SD	14.54 \pm 2.36	10.58 \pm 1.57	1.86 \pm 0.41
Dosis I	1	8.20	6.60	0.60
	2	8.00	6.60	0.50
	3	10.50	6.80	1.60
	4	13.70	8.30	4.40
	5	9.40	6.60	1.50
	Rata-rata \pm SD	9.96 \pm 2.32	6.98 \pm 0.74	1.72 \pm 1.58
Dosis II	1	12.50	11.30	0.60
	2	8.60	6.30	1.00
	3	11.30	8.40	1.30
	4	9.50	7.40	0.90
	5	21.30	17.60	1.30
	Rata-rata \pm SD	12.64 \pm 5.07	10.20 \pm 4.53	1.02 \pm 0.29
Dosis III	1	10.20	7.00	1.60
	2	8.70	6.00	1.10
	3	8.60	6.30	1.10
	4	11.00	8.80	0.50
	5	11.90	8.50	1.50
	Rata-rata \pm SD	10.08 \pm 1.44	7.32 \pm 1.27	1.16 \pm 0.43

Keterangan : Kontrol negatif : diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus; Kontrol positif : diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%; Dosis I, II, dan III masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,1962, 0,3924, dan 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%.

Tabel 4.11. Hasil pengukuran volume kaki tikus putih jantan yang diinduksi sel darah merah domba pada berbagai kelompok pada jam ke-1

Perlakuan	Ulangan	Sebelum tantangan (ml)	Volume kaki tikus setelah diinduksi pada jam ke-1(ml)	Selisih volume kaki (ml)	Persentase perubahan volume kaki (%)
Kontrol negatif	1	0.0265	0.0285	0.0020	7.02
	2	0.0240	0.0250	0.0010	4.00
	3	0.0205	0.0215	0.0010	4.65
	4	0.0270	0.0280	0.0010	3.57
	5	0.0225	0.0225	0.0000	0.00
Rata-rata ± SD		0.0241±0.0027	0.0251±0.0032	0.0010±0.0007	3.85±2.53
Kontrol positif	1	0.0240	0.0300	0.0060	20.00
	2	0.0260	0.0310	0.0050	16.13
	3	0.0260	0.0310	0.0050	16.13
	4	0.0285	0.0325	0.0040	12.31
	5	0.0250	0.0265	0.0015	5.66
Rata-rata ± SD		0.0259±0.0017	0.0302±0.0023	0.0043±0.0017	14.05±5.42
Dosis I	1	0.0220	0.0270	0.0050	18.52
	2	0.0190	0.0220	0.0030	13.64
	3	0.0260	0.0320	0.0060	18.75
	4	0.0285	0.0325	0.0040	12.31
	5	0.0250	0.0265	0.0015	5.66
Rata-rata ± SD		0.0241±0.0037	0.0280±0.0043	0.0039±0.0017	13.77±5.37
Dosis II	1	0.0300	0.0325	0.0025	7.69
	2	0.0240	0.0280	0.0040	14.29
	3	0.0290	0.0340	0.0050	14.71
	4	0.0275	0.0300	0.0025	8.33
	5	0.0250	0.0265	0.0015	5.66
Rata-rata ± SD		0.0271±0.0026	0.0302±0.0031	0.0031±0.0014	10.14±4.10
Dosis III	1	0.0250	0.0260	0.0010	3.85
	2	0.0255	0.0260	0.0005	1.92
	3	0.0220	0.0240	0.0020	8.33
	4	0.0240	0.0265	0.0025	9.43
	5	0.0210	0.0230	0.0020	8.70
Rata-rata ± SD		0.0235±0.0019	0.0251±0.0015	0.0016±0.0008	6.45±3.35

Keterangan : Kontrol negatif : diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus; Kontrol positif : diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%; Dosis I, II, dan III masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,1962, 0,3924, dan 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%.

Tabel 4.12. Hasil pengukuran volume kaki tikus putih jantan yang diinduksi sel darah merah domba pada berbagai kelompok pada jam ke-2

Perlakuan	Ulangan	Sebelum tantangan (ml)	Volume kaki tikus setelah diinduksi pada jam ke-2(ml)	Selisih volume kaki (ml)	Persentase perubahan volume kaki (%)
Kontrol negatif	1	0.0265	0.0285	0.0020	7.02
	2	0.0240	0.0250	0.0010	4.00
	3	0.0205	0.0215	0.0010	4.65
	4	0.0270	0.0280	0.0010	3.57
	5	0.0225	0.0240	0.0015	6.25
	Rata-rata ± SD	0.0241±0.0027	0.0254±0.0029	0.0013±0.0004	5.10±1.48
Kontrol positif	1	0.0240	0.0320	0.0080	25.00
	2	0.0260	0.0290	0.0030	10.34
	3	0.0260	0.0325	0.0065	20.00
	4	0.0285	0.0350	0.0065	18.57
	5	0.0250	0.0280	0.0030	10.71
	Rata-rata ± SD	0.0259±0.0017	0.0313±0.0028	0.0054±0.0023	16.93±6.31
Dosis 1	1	0.0220	0.0270	0.0050	18.52
	2	0.0190	0.0220	0.0030	13.64
	3	0.0260	0.0310	0.0050	16.13
	4	0.0285	0.0350	0.0065	18.57
	5	0.0250	0.0280	0.0030	10.71
	Rata-rata ± SD	0.0241±0.0037	0.0286±0.0048	0.0045±0.0015	15.51±3.37
Dosis 2	1	0.0300	0.0325	0.0025	7.69
	2	0.0240	0.0300	0.0060	20.00
	3	0.0290	0.0310	0.0020	6.45
	4	0.0275	0.0295	0.0020	6.78
	5	0.0250	0.0280	0.0030	10.71
	Rata-rata ± SD	0.0271±0.0026	0.0302±0.0017	0.0031±0.0017	10.33±5.66
Dosis 3	1	0.0250	0.0265	0.0015	5.66
	2	0.0255	0.0280	0.0025	8.93
	3	0.0220	0.0250	0.0030	12.00
	4	0.0240	0.0270	0.0030	11.11
	5	0.0210	0.0250	0.0040	16.00
	Rata-rata ± SD	0.0235±0.0019	0.0263±0.0013	0.0028±0.0009	10.74±3.82

Keterangan : Kontrol negatif : diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus; Kontrol positif : diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%; Dosis I, II, dan III masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,1962, 0,3924, dan 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%.

4.13. Hasil pengukuran volume kaki tikus putih jantan yang diinduksi sel darah merah domba pada berbagai kelompok pada jam ke-4

Perlakuan	Ulangan	Sebelum tantangan (ml)	Volume kaki tikus setelah diinduksi pada jam ke-4 (ml)	Selisih volume kaki (ml)	Persentase perubahan volume kaki (%)
Kontrol negatif	1	0.0265	0.0300	0.0035	11.67
	2	0.0240	0.0255	0.0015	5.88
	3	0.0205	0.0205	0.0000	0.00
	4	0.0270	0.0310	0.0040	12.90
	5	0.0225	0.0240	0.0015	6.25
	Rata-rata ± SD	0.0241±0.0027	0.0262±0.0043	0.0021±0.0016	7.34±5.17
Kontrol positif	1	0.0240	0.0290	0.0050	17.24
	2	0.0260	0.0265	0.0005	1.89
	3	0.0260	0.0280	0.0020	7.14
	4	0.0285	0.0320	0.0035	10.94
	5	0.0250	0.0255	0.0005	1.96
	Rata-rata ± SD	0.0259±0.0017	0.0282±0.0025	0.0023±0.0020	7.83±6.49
Dosis I	1	0.0220	0.0280	0.0060	21.43
	2	0.0190	0.0220	0.0030	13.64
	3	0.0260	0.0300	0.0040	13.33
	4	0.0285	0.0320	0.0035	10.94
	5	0.0250	0.0255	0.0005	1.96
	Rata-rata ± SD	0.0241±0.0037	0.0275±0.0039	0.0034±0.0020	12.26±6.98
Dosis II	1	0.0300	0.0325	0.0025	7.69
	2	0.0240	0.0270	0.0030	11.11
	3	0.0290	0.0290	0.0000	0.00
	4	0.0275	0.0280	0.0005	1.79
	5	0.0250	0.0260	0.0010	3.85
	Rata-rata ± SD	0.0271±0.0026	0.0285±0.0025	0.0014±0.0013	4.89±4.51
Dosis III	1	0.0250	0.0255	0.0005	1.96
	2	0.0255	0.0270	0.0015	5.56
	3	0.0220	0.0230	0.0010	4.35
	4	0.0240	0.0270	0.0030	11.11
	5	0.0210	0.0240	0.0030	12.50
	Rata-rata ± SD	0.0235±0.0019	0.0253±0.0018	0.0018±0.0012	7.10±4.52

Keterangan : Kontrol negatif : diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus; Kontrol positif : diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%; Dosis I, II, dan III masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,1962, 0,3924, dan 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%.

4.14. Hasil pengukuran volume kaki tikus putih jantan yang diinduksi sel darah merah domba pada berbagai kelompok pada jam ke-24

Perlakuan	Ulangan	Sebelum tantangan (ml)	Volume kaki tikus setelah diinduksi pada jam ke-24 (ml)	Selisih volume kaki (ml)	Persentase perubahan volume kaki (%)
Kontrol negatif	1	0.0265	0.0266	0.0001	0.38
	2	0.0240	0.0245	0.0005	2.04
	3	0.0205	0.0207	0.0002	0.97
	4	0.0270	0.0275	0.0005	1.82
	5	0.0225	0.0225	0.0000	0.00
	Rata-rata ± SD	0.0241±0.0027	0.0244±0.0028	0.0003±0.0002	1.04±0.89
Kontrol positif	1	0.0240	0.0290	0.0050	17.24
	2	0.0260	0.0265	0.0005	1.89
	3	0.0260	0.0270	0.0010	3.70
	4	0.0285	0.0290	0.0005	1.72
	5	0.0250	0.0250	0.0000	0.00
	Rata-rata ± SD	0.0259±0.0017	0.0273±0.0017	0.0014±0.0020	4.91±7.02
Dosis I	1	0.0220	0.0250	0.0030	12.00
	2	0.0190	0.0210	0.0020	9.52
	3	0.0260	0.0280	0.0020	7.14
	4	0.0285	0.0286	0.0001	0.35
	5	0.0250	0.0250	0.0000	0.00
	Rata-rata ± SD	0.0241±0.0037	0.0255±0.0030	0.0014±0.0013	5.80±5.42
Dosis II	1	0.0300	0.0315	0.0015	4.76
	2	0.0240	0.0245	0.0005	2.04
	3	0.0290	0.0290	0.0000	0.00
	4	0.0275	0.0280	0.0005	1.79
	5	0.0250	0.0250	0.0000	0.00
	Rata-rata ± SD	0.0271±0.0026	0.0276±0.0029	0.0005±0.0006	1.72±1.95
Dosis III	1	0.0250	0.0255	0.0005	1.96
	2	0.0255	0.0260	0.0005	1.92
	3	0.0220	0.0225	0.0005	2.22
	4	0.0240	0.0250	0.0010	4.00
	5	0.0210	0.0220	0.0010	4.55
	Rata-rata ± SD	0.0235±0.0019	0.0242±0.0018	0.0007±0.0003	2.93±1.25

Keterangan : Kontrol negatif : diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus; Kontrol positif : diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%; Dosis I, II, dan III masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,1962, 0,3924, dan 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%.

Tabel 4.15. Perbandingan bobot limpa

Perlakuan	Ulangan	Berat badan (gram)	Berat limpa (gram)	Bobot limpa relatif (%)
Kontrol negatif	1	187.400	2.049	1.093
	2	190.400	1.712	0.899
	3	186.400	1.046	0.561
	4	202.200	1.310	0.648
	5	185.400	1.157	0.624
Rata-rata ± SD		190.360±6.878	1.455±0.417	0.765±0.224
Kontrol positif	1	204.200	1.461	0.715
	2	190.100	0.874	0.460
	3	231.200	1.520	0.657
	4	195.300	0.998	0.511
	5	255.500	1.549	0.606
Rata-rata ± SD		184.998±27.510	1.281±0.319	0.636±0.105
Dosis I	1	164.400	1.195	0.727
	2	203.000	1.663	0.819
	3	202.800	1.287	0.635
	4	207.000	1.157	0.559
	5	234.100	1.296	0.554
Rata-rata ± SD		180.811±24.852	1.236±0.319	0.612±0.105
Dosis II	1	217.700	1.338	0.614
	2	212.800	0.991	0.466
	3	231.500	0.831	0.359
	4	205.700	1.175	0.571
	5	235.100	1.533	0.652
Rata-rata ± SD		182.671±60.617	1.182±0.277	0.572±0.119
Dosis III	1	208.600	1.329	0.637
	2	195.100	1.807	0.926
	3	181.800	1.035	0.569
	4	203.500	0.904	0.444
	5	184.900	0.999	0.540
Rata-rata ± SD		180.550±11.546	1.157±0.367	0.566±0.183

Keterangan : Kontrol negatif : diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus; Kontrol positif : diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%; Dosis I, II, dan III masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,1962, 0,3924, dan 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%.

Tabel 4.16. Berat badan tikus selama perlakuan

Kelompok	Ulangan														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
KN	1	170.0	180.4	180.8	174.9	186.9	188.1	186.4	202.8	187.8	197.8	190.5	187.1	185.4	180.5
	2	161.0	172.4	173.8	163.6	182.9	177.2	172.1	194.0	182.8	177.2	190.0	190.0	183.1	184.7
	3	166.1	165.1	162.9	172.5	173.0	166.2	191.2	179.6	175.5	187.1	184.8	178.9	180.5	175.2
	4	172.3	184.6	173.8	187.2	184.4	186.7	211.7	196.4	196.0	206.7	205.9	196.7	198.3	195.2
	5	155.3	153.0	153.0	151.4	159.8	169.4	167.7	173.1	178.3	184.5	192.8	176.5	184.7	188.4
	Rata-rata	164.9	171.1	168.9	169.9	177.4	177.5	185.8	189.2	184.1	190.7	192.8	185.8	186.4	184.8
SD	6.9	12.6	10.9	13.4	11.2	9.9	17.4	12.4	8.1	11.6	7.9	8.2	6.9	7.6	
KP	1	181.3	185.2	184.6	183.4	178.4	193.5	175.7	200.6	198.5	197.4	203.6	199.6	201.7	196.1
	2	175.5	181.9	185.4	183.5	183.9	198.2	179.7	202.2	196.4	205.8	205.0	205.3	208.3	190.3
	3	178.7	175.5	173.7	171.4	185.8	166.4	196.3	180.4	197.4	197.4	190.5	197.7	184.9	191.7
	4	215.4	205.1	203.3	188.4	225.4	192.6	230.2	219.9	225.1	229.4	228.4	234.6	214.7	217.4
	5	247.4	233.5	230.4	249.7	242.7	256.8	242.9	252.8	263.7	265.8	223.8	243.2	248.5	265.7
	Rata-rata	199.7	196.2	195.5	195.3	203.2	201.5	205.0	211.2	216.2	219.2	210.3	216.1	211.6	212.2
SD	31.2	23.6	22.2	31.1	28.9	33.3	30.2	27.1	29.1	29.2	15.6	21.2	23.4	31.8	
D I	1	164.4	165.4	166.8	165.9	169.7	155.8	156.6	157.1	166.7	172.1	163.2	172.5	163.5	157.1
	2	175.6	186.9	192.7	187.1	192.0	172.9	181.9	182.8	191.1	209.9	194.8	207.7	193.2	191.0
	3	198.9	186.3	185.4	194.7	187.3	189.5	181.7	192.8	200.7	200.9	204.8	206.6	192.1	192.1
	4	193.8	193.0	194.2	197.7	234.6	211.0	188.4	213.0	210.4	217.2	272.3	203.3	201.7	213.4
	5	233.2	251.0	228.5	244.3	240.9	250.5	237.8	244.5	244.2	244.3	225.2	232.6	224.9	233.9
	Rata-rata	193.2	196.5	193.5	197.9	204.9	192.2	189.3	198.0	200.7	208.9	212.1	204.5	195.1	197.5
SD	26.3	32.2	22.4	28.7	31.2	41.2	29.7	32.9	32.4	26.2	40.4	21.4	22.0	28.6	

Lanjutan


Kelompok	Ulangan	Hari ke-													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
D II	1	208.2	193.2	180.1	203.7	200.3	198.0	195.3	217.4	202.5	213.1	217.6	216.1	220.7	205.1
	2	204.9	194.3	194.3	183.8	185.5	196.2	190.3	202.0	198.2	206.4	214.3	203.5	192.5	204.1
	3	217.0	205.5	205.5	217.0	218.5	216.3	220.1	231.1	218.3	232.8	230.5	230.8	223.1	222.6
	4	191.7	193.7	190.5	200.0	196.9	212.7	197.8	195.8	206.7	210.5	215.8	193.2	190.6	212.5
	5	211.9	222.1	210.7	216.9	216.1	238.7	219.8	223.2	237.4	240.5	240.1	211.7	199.1	223.6
	Rata-rata	206.7	201.8	196.2	204.3	203.5	212.4	204.7	213.9	212.6	220.7	223.7	211.1	205.2	213.6
D III	SD	9.5	12.5	12.2	13.8	13.8	17.2	14.2	14.7	15.7	15.0	11.2	14.1	15.6	9.3
	1	199.5	202.7	195.7	203.0	196.5	207.2	199.6	198.5	215.1	213.9	216.0	209.3	218.1	200.8
	2	178.0	181.2	175.7	183.0	182.8	182.8	177.6	185.1	186.8	193.6	197.2	187.2	196.5	185.3
	3	179.2	183.8	185.8	183.2	187.4	189.1	181.2	178.4	190.4	185.1	187.2	187.9	191.2	174.8
	4	192.5	194.0	173.5	196.7	180.4	184.2	184.9	188.4	193.7	190.9	197.4	177.5	174.2	195.8
	5	182.8	193.8	184.8	191.6	201.3	203.3	196.5	204.8	202.9	208.2	203.4	182.9	182.0	204.3
D III	Rata-rata	186.4	191.1	183.1	191.5	189.7	193.3	188.0	191.0	197.8	198.3	200.2	189.0	192.4	192.2
	SD	9.27604	8.683	8.886	8.667	8.947	11.22	9.628	10.57	11.38	12.17	10.56	12.1	16.72	12.08

Keterangan : KN (Kontrol negatif): diberikan larutan koloidal CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g bb tikus; KP (Kontrol positif): diberikan suspensi levamisol hidroklorida 10 mg/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%; D I (Dosis I), D II (Dosis II), dan D III (Dosis III) masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol sarang semut 0,1962, 0,3924, dan 0,7848 g/200 g bb tikus dalam larutan koloidal CMC 0,5%.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi tanaman sarang semut



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, 7⁸ April 2011

Nomor : §/§/IPH.1.02/If.8/IV/2011
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan


Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Annisa Rahma Hendrasula
 Departemen Farmasi & FMIPA-UI

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.	Sarang Semut	<i>Myrmecodia archboldiana</i> Merr. & L.M.Perry	Rubiaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.



Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,
 Dr. Joeni Setijo Rahajoe
 NIP. 196706241993032004

D:\Ident 2011\Annisa Rahma Hendrasula.doc\APK-DG

Page 1 of 1

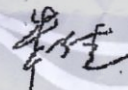
Lampiran 2. Sertifikat analisis levamisol hidroklorida

分 析 证

CERTIFICATE OF ANALYSIS
(LEVAMISOLE HYDROCHLORIDE)

Batch No. : 100424	✓ 5
Quantity : 1000Kgs	
Date of production : APR.14,2010	
Date of expiry : APR.13,2014	
Result of Examination	
CHARACTERISTIC :	Pass test
IDENTIFICATION :	Pass test
APPEARANCE OF SOLUTION :	Pass test
ACIDE :	PH 4.09
SPECIFIC OPTICAL ROTATION :	-122.8°
RELATED SUBSTANCES :	Pass test
HEAVY METALS :	Pass test
LOSS ON DRYING :	0.10%
SULPHATED ASH :	0.08%
ASSAY :	100.3%
JUDGEMENT :	CONFORMS TO BP2005

重 庆 医 药 保 健 品 进 出 口 公 司
CHONGQING MEDICINES & HEALTH
PRODUCTS IMPORT & EXPORT CORPORATION

Analyst: 

Lampiran 3. Penetapan dosis

Dosis empiris penggunaan umbi sarang semut untuk pencegahan penyakit adalah 20 gram per minggu, berarti penggunaan per hari sebesar 2,86 gram. Faktor konversi dari manusia ke tikus adalah 0,018, faktor farmakokinetika adalah 10 dan rendemen ekstrak sebesar 38,11%. Dosis sediaan uji untuk tikus didapatkan dengan mengalikan faktor-faktor tersebut dengan dosis untuk manusia yaitu 2,86 gram per hari. Dosis I adalah dosis yang digunakan pada manusia, dosis II adalah kelipatan dua dari dosis I dan dosis III adalah kelipatan dua dari dosis II. Berikut ini adalah perhitungan dosisnya:

Dosis ekstrak etanol umbi sarang semut:

Konversi dosis : $2,86 \text{ g} \times 0,018 \times 10 \times 38,11\% = 0,1962 \text{ g}/200 \text{ g bb tikus}$

Variasi dosis :

Dosis I : $0,1962 \text{ g}/200 \text{ g bb tikus}$

Dosis II : $0,1962 \text{ g}/200 \text{ g bb tikus} \times 2 = 0,3924 \text{ g}/200 \text{ g bb tikus}$

Dosis III : $0,3924 \text{ g}/200 \text{ g bb tikus} \times 2 = 0,7848 \text{ g}/200 \text{ g bb tikus}$

Dosis levamisol (berdasarkan penelitian sebelumnya) : $50 \text{ mg}/\text{kg}/\text{hari}$

Dosis untuk tikus berat 200 g : $50 \text{ mg}/1000 \text{ g} \times 200 \text{ g bb tikus} = 10 \text{ mg}/200 \text{ g bb tikus}$

Lampiran 4. Perhitungan larutan uji

Semua bahan uji yang akan diberikan pada tikus sebanyak 3 ml/200 g bb tikus. Tikus yang akan digunakan sebanyak 25 ekor yang terbagi dalam 5 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.

Larutan uji sediaan ekstrak etanol umbi sarang semut

Pada tahap pertama dibuat larutan uji dosis III terlebih dahulu, untuk mendapat dosis II dengan pengenceran dari dosis III dan untuk mendapatkan dosis I dari pengenceran dosis II. Dosis Dosis I, II, dan III sebesar 0,1962 g/200 g bb tikus, 0,3924 g/200 g bb tikus dan 0,7848 g/200 g bb tikus. Larutan uji dibuat suspensi menggunakan CMC 0,5%. Perhitungan volume larutan uji dan pembuatan per hari sebagai berikut:

Dosis III

Volume dosis III : 3 ml x 5 ekor x 1 hari = 15 ml ~ 20 ml, agar dapat digunakan untuk pengenceran dua kali pada penetapan dosis II maka volumenya ditingkatkan menjadi 40 ml.

Berat ekstrak yang ditimbang : $\frac{0,7848 \text{ g}}{3 \text{ ml}} \times 40 \text{ ml} = 10,464 \text{ g}$

Berat CMC 0,5% yang ditimbang : $\frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 40 \text{ ml} = 0,2 \text{ g}$

Pembuatannya :

CMC 0,5% yang dikembangkan dengan air panas di dalam lumpang dan diaduk hingga homogen. Tambahkan ekstrak yang telah ditimbang, lalu gerus dan aduk perlahan hingga ekstrak dapat bercampur dengan CMC. Tambahkan air sedikit demi sedikit, lalu diaduk hingga didapat suspensi ekstrak yang homogen. Tambahkan air hingga volumenya 40 ml.

Dosis II

Dosis III diambil sebanyak 20 ml, lalu dicukupkan hingga 40 ml dengan CMC 0,5% .

Dosis III

Dosis II diambil sebanyak 20 ml, lalu dicukupkan hingga 40 ml dengan CMC 0,5% .

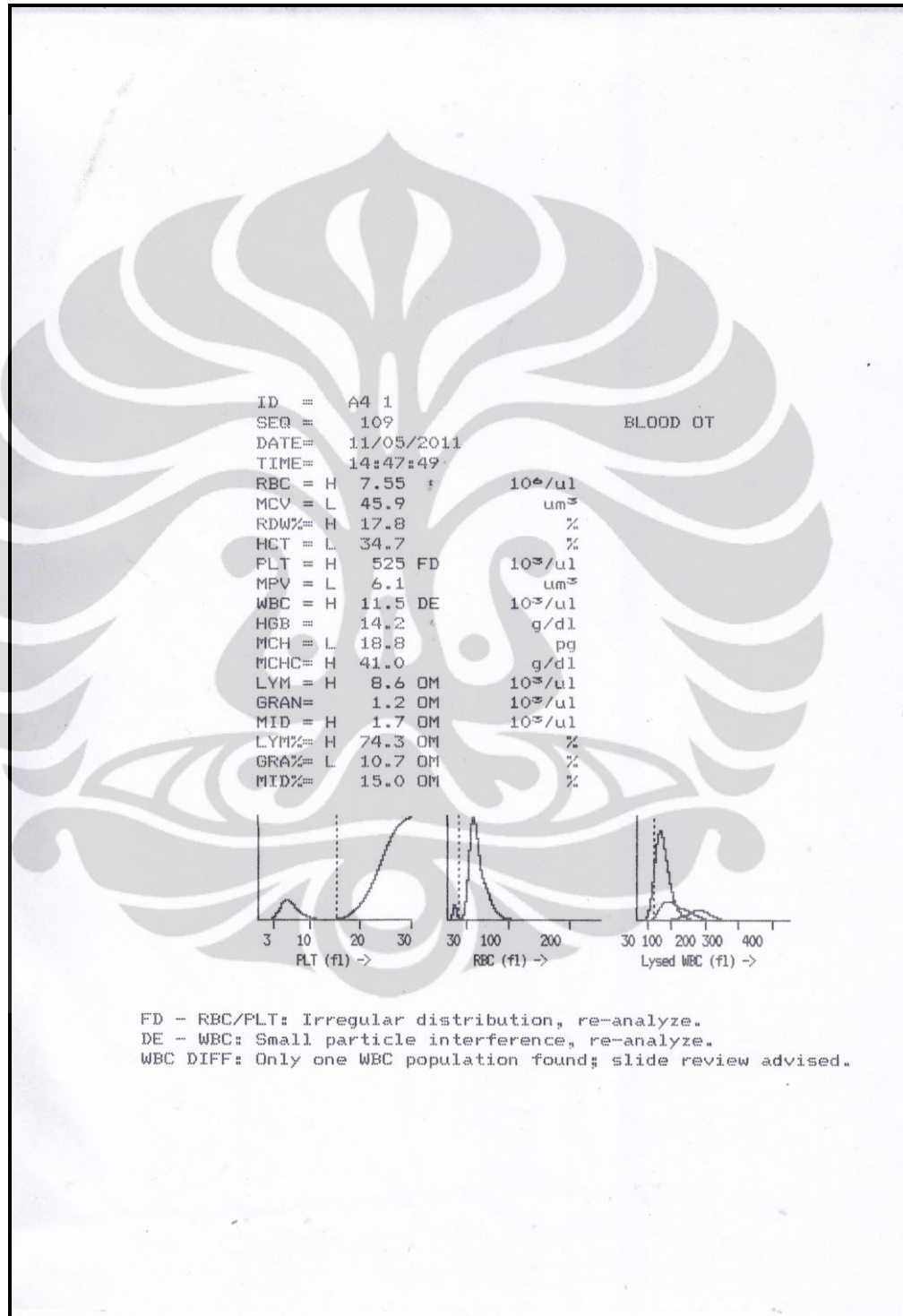
Larutan uji levamisol hidroklorida

Dosis untuk tikus adalah 10 mg/200 g bb tikus

Volume larutan untuk 5 tikus per hari : 3 ml x 5 ekor x 1 hari = 15 ml ~ 20 ml

Serbuk levamisol hidroklorida yang ditimbang : $\frac{10 \text{ mg} \times 20 \text{ ml}}{3 \text{ ml}} = 66,67 \text{ mg}$

Serbuk levamisol hidroklorida yang telah ditimbang sebanyak 66,67 mg disuspensikan dalam CMC 0,5% sebanyak 20 ml.

Lampiran 5. Hasil prin alat penghitung sel darah (*Medonic M-series*)

Lampiran 6. Uji statistik terhadap jumlah leukosit

Uji Distribusi Normal Terhadap Jumlah Leukosit

Tujuan : Mengetahui apakah data jumlah leukosit terdistribusi normal atau tidak

Hipotesa : H_0 = data terdistribusi normal

H_a = data tidak terdistribusi normal

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Tests of Normality

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Kontrol negatif	.913	5	.488
Kontrol positif	.841	5	.169
Dosis I	.876	5	.293
Dosis II	.816	5	.108
Dosis III	.914	5	.490

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : $\alpha > 0,05$

H_0 diterima data terdistribusi normal

Uji homogenitas varian terhadap jumlah leukosit

Tujuan : Mengetahui homogenitas variansi

Hipotesis : H_0 = data bervariasi homogen

H_a = data tidak bervariasi homogen

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Test of Homogeneity of Variances

WBC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.907	4	20	.479

Hasil : $\alpha > 0,05$

Ho diterima sehingga data bervariasi homogen

Uji analisis varian satu arah masing-masing kelompok perlakuan terhadap jumlah leukosit

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil secara bermakna antar setiap perlakuan atau tidak

Hipotesis : Ho = Hasil antar setiap perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Ha = Hasil antar setiap perlakuan berbeda secara bermakna

$\alpha : 0.05$

Kriteria : Ho ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	152.888	4	38.222	3.603	.023
Within Groups	212.172	20	10.609		
Total	365.060	24			

Hasil : $\alpha < 0,05$

Ho ditolak sehingga data jumlah leukosit antar kelompok berbeda secara bermakna

Uji beda nyata terkecil jumlah leukosit

Tujuan : Untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan yang bermakna

Hipotesis : H_0 = Kelompok tidak berbeda secara bermakna
 H_a = Kelompok tersebut berbeda secara bermakna

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Multiple Comparisons

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif	Kontrol positif	1.7400000	2.0599612	.408	-2.557004	6.037004
	Dosis I	6.3200000*	2.0599612	.006	2.022996	10.617004
	Dosis II	3.6400000	2.0599612	.092	-.657004	7.937004
	Dosis III	6.2000000*	2.0599612	.007	1.902996	10.497004
Kontrol positif	Kontrol negatif	-1.7400000	2.0599612	.408	-6.037004	2.557004
	Dosis I	4.5800000*	2.0599612	.038	.282996	8.877004
	Dosis II	1.9000000	2.0599612	.367	-2.397004	6.197004
	Dosis III	4.4600000*	2.0599612	.043	.162996	8.757004
Dosis 1	Kontrol negatif	-6.3200000*	2.0599612	.006	-10.617004	-2.022996
	Kontrol positif	-4.5800000*	2.0599612	.038	-8.877004	-.282996
	Dosis II	-2.6800000	2.0599612	.208	-6.977004	1.617004
	Dosis III	-.1200000	2.0599612	.954	-4.417004	4.177004
Dosis 2	Kontrol negatif	-3.6400000	2.0599612	.092	-7.937004	.657004
	Kontrol positif	-1.9000000	2.0599612	.367	-6.197004	2.397004
	Dosis I	2.6800000	2.0599612	.208	-1.617004	6.977004
	Dosis III	2.5600000	2.0599612	.228	-1.737004	6.857004
Dosis 3	Kontrol negatif	-6.2000000*	2.0599612	.007	-10.497004	-1.902996
	Kontrol positif	-4.4600000*	2.0599612	.043	-8.757004	-.162996
	Dosis I	.1200000	2.0599612	.954	-4.177004	4.417004
	Dosis III	-2.5600000	2.0599612	.228	-6.857004	1.737004

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 7. Uji statistik jumlah limfosit

Uji Distribusi Normal Terhadap Jumlah Limfosit

Tujuan : Mengetahui apakah data jumlah leukosit terdistribusi normal atau tidak

Hipotesa : H_0 = data terdistribusi normal

H_a = data tidak terdistribusi normal

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Tests of Normality

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Kontrol negatif	.935	5	.630
Kontrol positif	.899	5	.404
Dosis I	.629	5	.001
Dosis II	.868	5	.260
Dosis III	.885	5	.331

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : $\alpha > 0,05$

H_0 diterima data terdistribusi normal

Uji Homogenitas Varian Terhadap Jumlah Limfosit

Tujuan : Mengetahui homogenitas variansi

Hipotesis : H_0 = data bervariasi homogen

H_a = data tidak bervariasi homogen

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.522	4	20	.025

Hasil : $\alpha < 0,05$

Ho ditolak sehingga data tidak bervariasi homogen

Uji Non Parametrik Jumlah Limfosit

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil secara bermakna antar setiap perlakuan atau tidak

Hipotesis : Ho = Hasil antar setiap perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Ha = Hasil antar setiap perlakuan berbeda secara bermakna

$\alpha : 0.05$

Kriteria : Ho ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Test Statistics^{a,b}

	Limfositabsolut
Chi-Square	12.883
Df	4
Asymp. Sig.	.012

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Hasil : $\alpha < 0,05$

Ho ditolak sehingga data jumlah limfosit antar kelompok berbeda secara bermakna

Uji Mann-Whitney Terhadap Jumlah Limfosit

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil secara bermakna anatar tiap kelompok

Hipotesis : H_0 = Hasil tidak berbeda secara bermakan

H_a = Hasil berbeda secara bermakan

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Kontrol Negatif dan Kontrol Positif

Test Statistics ^b	
	Limfositabsolut
Mann-Whitney U	12.000
Wilcoxon W	27.000
Z	-.104
Asymp. Sig. (2-tailed)	.917
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kontrol Negatif dan Dosis I

Test Statistics ^b	
	Limfositabsolut
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.643
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kontrol Negatif dan Dosis II

Test Statistics ^b	
	Limfositabsolut
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	24.000
Z	-.731
Asymp. Sig. (2-tailed)	.465
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kontrol Negatif dan Dosis III

Test Statistics ^b	
	Limfositabsolut
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-2.402
Asymp. Sig. (2-tailed)	.016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

(lanjutan)

Kontrol Positif dan Dosis I**Test Statistics^b**

	Limfositabsolut
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.643
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kontrol Positif dan Dosis II**Test Statistics^b**

	Limfositabsolut
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	23.000
Z	-.940
Asymp. Sig. (2-tailed)	.347
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.421 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kontrol Positif dan Dosis III**Test Statistics^b**

	Limfositabsolut
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Dosis I dan Dosis II**Test Statistics^b**

	Limfositabsolut
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-1.375
Asymp. Sig. (2-tailed)	.169
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Dosis I dan Dosis III**Test Statistics^b**

	Limfositabsolut
Mann-Whitney U	11.000
Wilcoxon W	26.000
Z	-.317
Asymp. Sig. (2-tailed)	.751
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Dosis II dan III**Test Statistics^b**

	Limfositabsolut
Mann-Whitney U	7.500
Wilcoxon W	22.500
Z	-1.048
Asymp. Sig. (2-tailed)	.295
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.310 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Lampiran 8. Uji statistik jumlah granulosit

Uji Distribusi Normal Terhadap Jumlah Granulosit

Tujuan : Mengetahui apakah data jumlah leukosit terdistribusi normal atau tidak

Hipotesa : H_0 = data terdistribusi normal

H_a = data tidak terdistribusi normal

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Tests of Normality

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Kontrol negatif	.991	5	.984
Kontrol positif	.863	5	.241
Dosis I	.804	5	.087
Dosis II	.907	5	.449
Dosis III	.911	5	.473

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : $\alpha > 0,05$

H_0 diterima data terdistribusi normal

Uji homogenitas varian terhadap jumlah granulosit

Tujuan : Mengetahui homogenitas variansi

Hipotesis : H_0 = data bervariasi homogen

H_a = data tidak bervariasi homogen

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Test of Homogeneity of Variances

Granulositabs

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.738	4	20	.058

Hasil : $\alpha > 0,05$

Ho diterima sehingga data bervariasi homogen

Uji Analisis Varian Satu Arah Masing-Masing Kelompok Perlakuan Terhadap Jumlah Granulosit

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil secara bermakna antar setiap perlakuan atau tidak

Hipotesis : Ho = Hasil antar setiap perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Ha = Hasil antar setiap perlakuan berbeda secara bermakna

$\alpha : 0.05$

Kriteria : Ho ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

ANOVA

Granulositabs

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26.362	4	6.591	4.946	.006
Within Groups	26.648	20	1.332		
Total	53.010	24			

Hasil : $\alpha < 0,05$

Ho ditolak sehingga data jumlah leukosit antar kelompok berbeda secara bermakna

Uji Beda Nyata Terkecil Jumlah Granulosit

Tujuan : Untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan yang bermakna

Hipotesis : H_0 = Kelompok tidak berbeda secara bermakna
 H_a = Kelompok tersebut berbeda secara bermakna

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Multiple Comparisons

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif	Kontrol positif	2.020000*	.7300411	.012	.497161	3.542839
	Dosis I	2.160000*	.7300411	.008	.637161	3.682839
	Dosis II	2.860000*	.7300411	.001	1.337161	4.382839
	Dosis III	2.720000*	.7300411	.001	1.197161	4.242839
Kontrol positif	Kontrol negatif	-2.020000*	.7300411	.012	-3.542839	-.497161
	Dosis I	.1400000	.7300411	.850	-1.382839	1.662839
	Dosis II	.8400000	.7300411	.263	-.682839	2.362839
	Dosis III	.7000000	.7300411	.349	-.822839	2.222839
Dosis 1	Kontrol negatif	-2.160000*	.7300411	.008	-3.682839	-.637161
	Kontrol positif	-.1400000	.7300411	.850	-1.662839	1.382839
	Dosis II	.7000000	.7300411	.349	-.822839	2.222839
	Dosis III	.5600000	.7300411	.452	-.962839	2.082839
Dosis 2	Kontrol negatif	-2.860000*	.7300411	.001	-4.382839	-1.337161
	Kontrol positif	-.8400000	.7300411	.263	-2.362839	.682839
	Dosis I	-.7000000	.7300411	.349	-2.222839	.822839
	Dosis III	-.1400000	.7300411	.850	-1.662839	1.382839
Dosis 3	Kontrol negatif	-2.720000*	.7300411	.001	-4.242839	-1.197161
	Kontrol positif	-.7000000	.7300411	.349	-2.222839	.822839
	Dosis I	-.5600000	.7300411	.452	-2.082839	.962839
	Dosis II	.1400000	.7300411	.850	-1.382839	1.662839

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 9. Uji statistik Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-1

Uji Distribusi Normal Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-1

Tujuan : Untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan yang bermakna

Hipotesis : H_0 = Kelompok tidak berbeda secara bermakna
 H_a = Kelompok tersebut berbeda secara bermakna

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Persen1 Kontrol negatif	.256	5	.200*	.948	5	.720
Kontrol positif	.250	5	.200*	.930	5	.597
Dosis I	.212	5	.200*	.902	5	.423
Dosis II	.270	5	.200*	.858	5	.221
Dosis III	.313	5	.122	.848	5	.189

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : $\alpha > 0,05$

H_0 diterima data terdistribusi normal

Uji Homogenitas Varian Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-1

Tujuan : Mengetahui homogenitas variansi

Hipotesis : H_0 = data bervariasi homogen

H_a = data tidak bervariasi homogen

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.970	4	20	.446

Hasil : $\alpha > 0,05$

Ho diterima sehingga data bervariasi homogen

Uji Analisis Varian Satu Arah Masing-Masing Kelompok Perlakuan Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-1

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil secara bermakna antar setiap perlakuan atau tidak

Hipotesis : Ho = Hasil antar setiap perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Ha = Hasil antar setiap perlakuan berbeda secara bermakna

$\alpha : 0.05$

Kriteria : Ho ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	402.569	4	100.642	5.432	.004
Within Groups	370.585	20	18.529		
Total	773.153	24			

Hasil : $\alpha < 0,05$

Ho ditolak sehingga data jumlah leukosit antar kelompok berbeda secara bermakna

Uji Beda Nyata Terkecil Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-1

Tujuan : Untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan yang bermakna

Hipotesis : H_0 = Kelompok tidak berbeda secara bermakna
 H_a = Kelompok tersebut berbeda secara bermakna

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Multiple Comparisons

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif	Kontrol positif	-10.1980000*	2.7224436	.001	-15.876918	-4.519082
	Dosis I	-9.9280000*	2.7224436	.002	-15.606918	-4.249082
	Dosis II	-6.2880000*	2.7224436	.032	-11.966918	-.609082
	Dosis III	-2.5980000	2.7224436	.351	-8.276918	3.080918
Kontrol positif	Kontrol negatif	10.1980000*	2.7224436	.001	4.519082	15.876918
	Dosis I	.2700000	2.7224436	.922	-5.408918	5.948918
	Dosis II	3.9100000	2.7224436	.166	-1.768918	9.588918
	Dosis III	7.6000000*	2.7224436	.011	1.921082	13.278918
Dosis 1	Kontrol negatif	9.9280000*	2.7224436	.002	4.249082	15.606918
	Kontrol positif	-.2700000	2.7224436	.922	-5.948918	5.408918
	Dosis II	3.6400000	2.7224436	.196	-2.038918	9.318918
	Dosis III	7.3300000*	2.7224436	.014	1.651082	13.008918
Dosis 2	Kontrol negatif	6.2880000*	2.7224436	.032	.609082	11.966918
	Kontrol positif	-3.9100000	2.7224436	.166	-9.588918	1.768918
	Dosis II	-3.6400000	2.7224436	.196	-9.318918	2.038918
	Dosis III	3.6900000	2.7224436	.190	-1.988918	9.368918
Dosis 3	Kontrol negatif	2.5980000	2.7224436	.351	-3.080918	8.276918
	Kontrol positif	-7.6000000*	2.7224436	.011	-13.278918	-1.921082
	Dosis I	-7.3300000*	2.7224436	.014	-13.008918	-1.651082
	Dosis II	-3.6900000	2.7224436	.190	-9.368918	1.988918

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 10. Uji Statistik Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam Ke-2

Uji Distribusi Normal Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-2

Tujuan : Untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan yang bermakna

Hipotesis : H_0 = Kelompok tidak berbeda secara bermakna

H_a = Kelompok tersebut berbeda secara bermakna

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
Persen2	Kontrol negatif	.219	5	.200*	.918	5	.517
	Kontrol positif	.238	5	.200*	.902	5	.418
Dosis I	.214	5	.200*	.904	5	.431	
Dosis II	.279	5	.200*	.772	5	.047	
Dosis III	.171	5	.200*	.991	5	.984	

a. Lilliefors Significance Correction

*, This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : $\alpha > 0,05$

H_0 diterima data terdistribusi normal

Uji Homogenitas Varian Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-2

Tujuan : Mengetahui homogenitas variansi

Hipotesis : H_0 = data bervariasi homogen

H_a = data tidak bervariasi homogen

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.035	4	20	.128

Hasil : $\alpha > 0,05$

Ho diterima sehingga data bervariasi homogen

Uji Analisis Varian Satu Arah Masing-Masing Kelompok Perlakuan Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-2

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil secara bermakna antar setiap perlakuan atau tidak

Hipotesis : Ho = Hasil antar setiap perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Ha = Hasil antar setiap perlakuan berbeda secara bermakna

$\alpha : 0.05$

Kriteria : Ho ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	441.153	4	110.288	5.511	.004
Within Groups	400.217	20	20.011		
Total	841.370	24			

Hasil : $\alpha < 0,05$

Ho ditolak sehingga data jumlah leukosit antar kelompok berbeda secara bermakna

Uji Beda Nyata Terkecil Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-2

Tujuan : Untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan yang bermakna

Hipotesis : H_0 = Kelompok tidak berbeda secara bermakna
 H_a = Kelompok tersebut berbeda secara bermakna

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Multiple Comparisons

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif	Kontrol positif	-11.8260000*	2.8291951	.000	-17.727598	-5.924402
	Dosis I	-10.4160000*	2.8291951	.001	-16.317598	-4.514402
	Dosis II	-5.2280000	2.8291951	.079	-11.129598	.673598
	Dosis III	-5.6420000	2.8291951	.060	-11.543598	.259598
Kontrol positif	Kontrol negatif	11.8260000*	2.8291951	.000	5.924402	17.727598
	Dosis I	1.4100000	2.8291951	.624	-4.491598	7.311598
	Dosis II	6.5980000*	2.8291951	.030	.696402	12.499598
	Dosis III	6.1840000*	2.8291951	.041	.282402	12.085598
Dosis 1	Kontrol negatif	10.4160000*	2.8291951	.001	4.514402	16.317598
	Kontrol positif	-1.4100000	2.8291951	.624	-7.311598	4.491598
	Dosis II	5.1880000	2.8291951	.082	-.713598	11.089598
	Dosis III	4.7740000	2.8291951	.107	-1.127598	10.675598
Dosis 2	Kontrol negatif	5.2280000	2.8291951	.079	-.673598	11.129598
	Kontrol positif	-6.5980000*	2.8291951	.030	-12.499598	-.696402
	Dosis I	-5.1880000	2.8291951	.082	-11.089598	.713598
	Dosis III	-.4140000	2.8291951	.885	-6.315598	5.487598
Dosis 3	Kontrol negatif	5.6420000	2.8291951	.060	-.259598	11.543598
	Kontrol positif	-6.1840000*	2.8291951	.041	-12.085598	-.282402
	Dosis I	-4.7740000	2.8291951	.107	-10.675598	1.127598
	Dosis II	.4140000	2.8291951	.885	-5.487598	6.315598

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 11. Uji Statistik Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-4

Uji Distribusi Normal Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-4

Tujuan : Untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan yang bermakna

Hipotesis : H_0 = Kelompok tidak berbeda secara bermakna

H_a = Kelompok tersebut berbeda secara bermakna

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
Persen4	Kontrol negatif	.219	5	.200*	.918	5	.517
	Kontrol positif	.238	5	.200*	.902	5	.418
	Dosis I	.214	5	.200*	.904	5	.431
	Dosis II	.279	5	.200*	.772	5	.047
	Dosis III	.171	5	.200*	.991	5	.984

Kesimpulan : $\alpha > 0,05$

H_0 diterima data terdistribusi normal

Uji Homogenitas Varian Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam 4

Tujuan : Mengetahui homogenitas variansi

Hipotesis : H_0 = data bervariansi homogen

H_a = data tidak bervariansi homogen

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.195	4	20	.938

Hasil : $\alpha > 0,05$

Ho diterima sehingga data bervariasi homogen

Uji Analisis Varian Satu Arah Masing-Masing Kelompok Perlakuan Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-4

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil secara bermakna antar setiap perlakuan atau tidak

Hipotesis : Ho = Hasil antar setiap perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Ha = Hasil antar setiap perlakuan berbeda secara bermakna

$\alpha : 0.05$

Kriteria : Ho ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	145.224	4	36.306	1.147	.363
Within Groups	632.991	20	31.650		
Total	778.215	24			

Hasil : $\alpha < 0,05$

Ho ditolak sehingga data jumlah leukosit antar kelompok tidak berbeda secara bermakna

Lampiran 12. Uji Statistik Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-24

Uji Distribusi Normal Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-24

Tujuan : Untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan yang bermakna

Hipotesis : H_0 = Kelompok tidak berbeda secara bermakna
 H_a = Kelompok tersebut berbeda secara bermakna

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Persen24 Kontrol negatif	.210	5	.200*	.927	5	.575
Kontrol positif	.368	5	.025	.724	5	.017
Dosis I	.243	5	.200*	.884	5	.329
Dosis II	.235	5	.200*	.876	5	.290
Dosis III	.315	5	.117	.805	5	.089

Kesimpulan : $\alpha > 0,05$

H_0 diterima data terdistribusi normal

Uji Homogenitas Varian Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-24

Tujuan : Mengetahui homogenitas variansi

Hipotesis : H_0 = data bervariansi homogen

H_a = data tidak bervariansi homogen

α : 0.05

Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.178	4	20	.013

Hasil : $\alpha < 0,05$

Ho ditolak sehingga data tidak bervariasi homogen

Uji Non Parametrik Terhadap Presentase Perubahan Tebal Kaki Jam ke-24

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil secara bermakna antar setiap perlakuan atau tidak

Hipotesis : Ho = Hasil antar setiap perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Ha = Hasil antar setiap perlakuan berbeda secara bermakna

$\alpha : 0.05$

Kriteria : Ho ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Test Statistics^{a,b}

	Persen24
Chi-Square	3.996
df	4
Asymp. Sig.	.407

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Hasil : $\alpha > 0,05$

Ho ditolak sehingga data jumlah limfosit antar kelompok tidak berbeda secara bermakna

Lampiran 13. Uji statistik bobot relatif limpa

Uji Distribusi Normalitas Terhadap Perbandingan Bobot Limpa

Tujuan : Mengetahui distribusi normalitas Perbandingan Bobot limpa

Hipotesa : Ho = distribusi Perbandingan Bobot limpa normal

Ha = distribusi Perbandingan Bobot limpa tidak normal

α : 0.05

Kriteria : Ho ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kontrol negatif	.299	5	.163	.879	5	.303
Kontrol positif	.175	5	.200*	.963	5	.830
Dosis I	.210	5	.200*	.906	5	.443
Dosis II	.227	5	.200*	.933	5	.617
Dosis III	.270	5	.200*	.883	5	.323

Hasil : Nilai signifikansi kelima kelompok $> \alpha$

Kesimpulan : Ho diterima sehingga data terdistribusi normal

Uji Homogenitas Varian terhadap Perbandingan Bobot Limpa

Tujuan : Mengetahui homogenitas variansi Perbandingan Bobot limpa

Hipotesis : Ho = data perbandingan bobot limpa bervariasi homogen

Ha = data data perbandingan bobot limpa tidak bervariasi homogen

α : 0.05

Kriteria : Ho ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.525	4	20	.233

Hasil : Nilai signifikansi Perbandingan Bobot Limpa $> \alpha$

Kesimpulan : Ho diterima sehingga data bervariasi homogen

Uji Analisis Varian Satu Arah Masing-masing Kelompok Perlakuan terhadap Perbandingan bobot Limpa

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna terhadap bobot limpa

Hipotesis : Ho = Perbandingan bobot Limpa tidak berbeda secara bermakna

Ha = Perbandingan bobot Limpa berbeda secara bermakna

α : 0.05

Kriteria : Ho ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

ANOVA

Persbobotlimparelatif

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.151	4	.038	1.549	.226
Within Groups	.487	20	.024		
Total	.638	24			

Hasil : Nilai signifikansi perubahan BB $> \alpha$

Kesimpulan : Ho diterima sehingga tidak terdapat perbedaan bermakna pada perbandingan bobot limpa