



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN KOMBINASI
EKSTRAK ETANOL MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.) DAN
JINTEN HITAM (*Nigella sativa* L.) PADA
TIKUS PUTIH JANTAN**

SKRIPSI

**NANCY RAISSA
0606070863**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN KOMBINASI EKSTRAK
ETANOL MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.) DAN JINTEN
HITAM (*Nigella sativa* L.) PADA
TIKUS PUTIH JANTAN**

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

**NANCY RAISSA
0606070863**

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

ii

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Nancy Raissa

NPM : 0606070863

Tanda Tangan :



Tanggal

: 4 Januari 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Nancy Raissa

NPM : 0606070863

Program Studi : Farmasi

Judul Skripsi : Uji Aktivitas Immunostimulan Kombinasi Ekstrak Etanol Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.) pada Tikus Putih Jantan

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan telah 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 : Dr. Retnosari Andrajati, MS. (.....)

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

Penguji : Drs. Hayun, M.Si. (.....)

Penguji : Prof. Dr. Atiek Soemiati, MS. (.....)

Penguji : Drs. Umar Mansur, M.Sc. (.....)

Ditetapkan di Depok

Tanggal : 4 Januari 2011

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.

Pada kesempatan ini, dengan segala kerendahan hati dan rasa hormat, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Dr. Retnosari Andrajati, MS., selaku pembimbing I dan Ibu Dr. Katrin, MS., selaku pembimbing II dan pembimbing akademis, yang dengan sabar telah membimbing, memberikan saran, dan motivasi selama penelitian berlangsung hingga tersusunnya skripsi ini.
2. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS, selaku ketua Departemen Farmasi atas dukungannya selama ini.
3. Ibu Dr. Berna Elya, M.Si, selaku Koordinator Pendidikan atas segala bantuan dan nasihatnya selama ini.
4. Seluruh staf pengajar Departemen FMIPA UI, yang telah membimbing penulis selama 4 tahun ini.
5. Pak Hadison dan Pak Surya yang telah banyak membantu penulis selama pengerjaan penelitian skripsi ini.
6. Orang Tua, kakak, dan adik atas perhatian dan bantuan yang diberikan selama penulis melakukan penelitian.
7. Teman-teman yang telah memberikan semangat dan bantuan selama penulis melakukan penelitian
8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu per satu atas segala bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung kepada penulis selama penulisan dan penyusunan skripsi ini.

Depok, Juli 2011

Penulis

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

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

Nama : Nancy Raissa

NPM : 0606070863

Program Studi : Farmasi

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 Kombinasi Ekstrak Etanol Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.) pada Tikus Putih Jantan

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 4 Januari 2011

Yang menyatakan



(Nancy Raissa)

ABSTRAK

Nama : Nancy Raissa
Program Studi : Farmasi
Judul : Uji Aktivitas Imunostimulan Kombinasi Ekstrak Etanol Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.) pada Tikus Putih Jantan

Ekstrak meniran dan jinten hitam telah lama digunakan sebagai imunostimulan tunggal. Sedangkan kombinasi kedua ekstrak tersebut belum pernah digunakan sebagai imunostimulan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek imunostimulan dari kombinasi ekstrak meniran dan jinten hitam dibandingkan dengan efek imunostimulan dari ekstrak tunggal. Penelitian dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap menggunakan 24 ekor tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley* yang terbagi dalam 6 kelompok. Larutan uji dalam bentuk suspensi diberikan secara per oral. Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol. Kelompok 2 diberikan suspensi ekstrak meniran dosis tunggal (27 mg per hewan uji). Kelompok 3 diberikan suspensi ekstrak jinten hitam (10 mg per hewan uji). Kelompok 4 diberikan suspensi kombinasi 1 (13,5 mg ekstrak meniran dan 5 mg ekstrak jinten hitam per hewan uji). Kelompok 5 diberikan suspensi kombinasi 2 (6,75 mg ekstrak meniran dan 7,5 mg ekstrak jinten hitam per hewan uji). Kelompok 6 diberikan suspensi kombinasi 3 (21 mg ekstrak meniran dan 2,5 mg ekstrak jinten hitam per hewan uji). Aktivitas imunostimulan diukur dengan uji hipersensitivitas tipe lambat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua variasi dosis kombinasi ekstrak meniran dan jinten hitam memiliki aktivitas imunostimulan. Dosis kombinasi 2 memiliki aktivitas imunostimulan yang paling kuat dibandingkan dosis kombinasi lainnya maupun ekstrak dalam dosis tunggal. Dosis kombinasi 3 memiliki aktivitas imunostimulan yang lebih kuat daripada dosis kombinasi 1 dan dosis ekstrak tunggal. Aktivitas imunostimulan dari dosis kombinasi 1 dan dosis ekstrak tunggal tidak memiliki perbedaan yang bermakna.

Kata kunci : *Phyllanthus niruri* L., *Nigella sativa* L., Imunostimulan, Uji Hipersensitivitas Tipe Lambat

xiii + 50 halaman: 7 Lampiran; 5 Gambar; 5 Tabel
Daftar Acuan : 32 (1977-2010)

ABSTRACT

Name : Nancy Raissa
Study Program : Pharmacy
Title : Immunostimulant Activity of Stonebreaker (*Phyllanthus niruri* L.) and Black Seed (*Nigella sativa* L.) Ethanol Extract Combination in Male Albino Rats

Phyllanthus niruri L. and *Nigella sativa* L. have been used as sole immunostimulant agents for a long time. However, the combination of these herbs haven't been used as immunostimulant agent. This research has been done to know whether the combination of the extracts can cause adequate immunostimulant activity compared to extracts of each herb, which using complete random design on 24 Sprague-Dawley male albino rats. The rats were divided into 6 groups. The extracts was given orally in suspension form. Group 1 is the control group. Group 2 was given *Phyllanthus niruri* L. extract in single dose (27 mg for each rat). Group 3 was given *Nigella sativa* L. extract in single dose (10 mg for each rat). Group 4 was given the combination no.1 (13,5 mg of *Phyllanthus niruri* L. extract and 5 mg of *Nigella sativa* L. Extract for each rat). Group 5 was given the combination no.2 (6,75 mg of *Phyllanthus niruri* L. extract and 7,5 mg of *Nigella sativa* L. extract for each rat). Group 6 was given the combination no.3 (20,25 mg of *Phyllanthus niruri* L. extract and 2,5 mg of *Nigella sativa* L. extract for each rat). Immunostimulant activity was measured using delayed hypersensitivity test. The result of this research shows that the combination of *Phyllanthus niruri* L. and *Nigella sativa* L. ethanol extract can cause adequate immunostimulant activity in rats. Combination no.2 had the strongest immunostimulant activity compared to other combination dosages or single extracts. Combination no.3 had stronger immunostimulant activity than combination no.1 and single extracts. Immunostimulant activity of combination no.1, *Phyllanthus niruri* L. extracts and *Nigella sativa* L. extracts didn't have significant difference.

Keywords : *Phyllanthus niruri* L., *Nigella sativa* L., Immunostimulant, Delayed Hypersensitivity Test.

xiii + 50 Pages: 7 Appendixes; 5 Figures; 5 Tables
Bibliography : 32 (1977-2010)

DAFTAR ISI

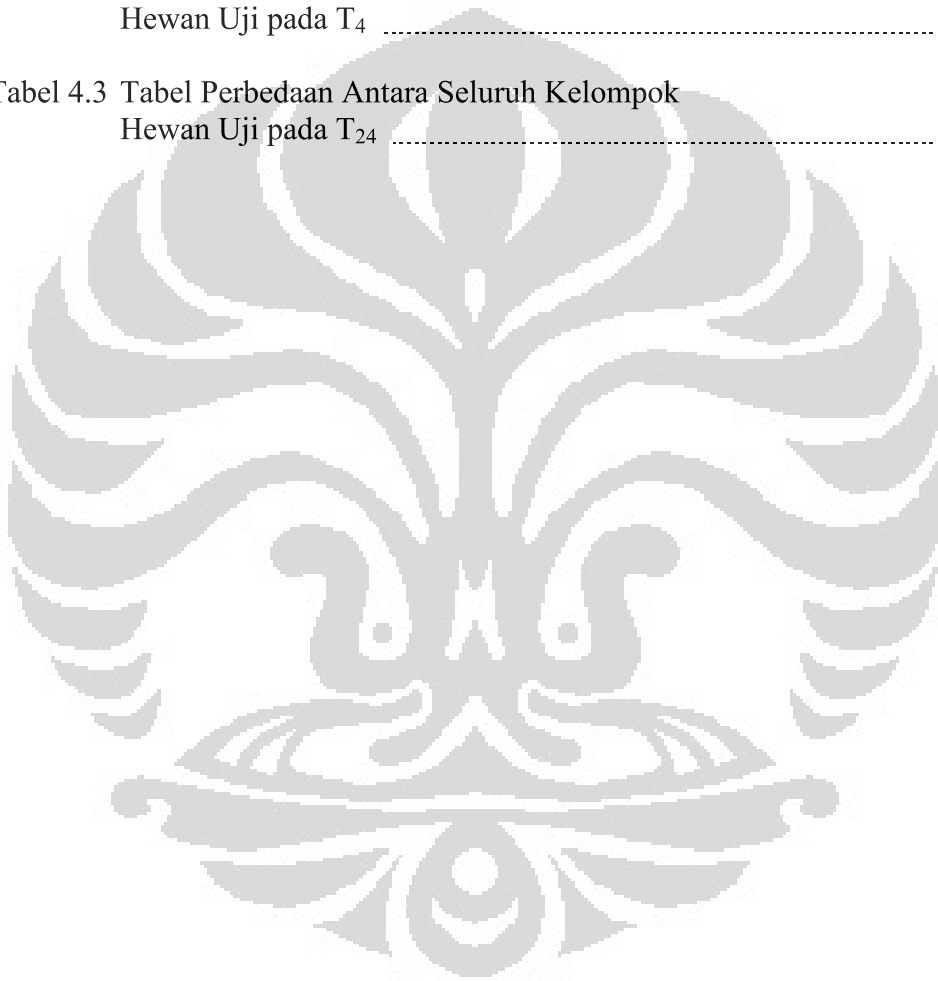
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
1.3 Hipotesis	2
2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Imunostimulan	3
2.2 Respon Imun	4
2.2.1 Respon Imun Nonspesifik	4
2.2.2 Respon Imun Spesifik	7
2.3 Imunomodulasi	8
2.4 Jinten Hitam	9
2.4.1 Taksonomi	9
2.4.2 Morfologi	9
2.4.3 Kandungan Kimia	10
2.4.4 Efek Farmakologi	10
2.4.5 Kontraindikasi	11
2.5 Meniran	11
2.5.1 Taksonomi	11
2.5.2 Morfologi	11
2.5.3 Kandungan Kimia	12
2.5.4 Efek Farmakologi	12
2.5.5 Kontraindikasi	12
2.6 Metode Pengukuran Aktivitas Sistem Imun	13
2.6.1 Uji Hipersensitivitas Tipe Lambat	13
2.6.2 Pengukuran Aktivitas Makrofag	13
2.6.3 Pengukuran Antibodi	14
2.6.4 Uji Respon Imun Non-Spesifik Humoral	14
3. BAHAN DAN CARA KERJA	16
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	16
3.2 Alat dan Bahan	16
3.2.1 Alat	16
3.2.2 Bahan	16

3.3 Cara Kerja	17
3.3.1 Penetapan Dosis	17
3.3.2 Persiapan Bahan Uji	18
3.3.3 Persiapan Hewan Uji	20
3.3.4 Uji Hipersensitivitas Tipe Lambat	21
3.3.5 Pengolahan Data	22
4. HASIL PERCOBAAN DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Perubahan Tebal Kaki Tikus 4 Jam Setelah Pemberian Antigen	24
4.2 Perubahan Tebal Kaki Tikus 24 Jam Setelah Pemberian Antigen	25
5. KESIMPULAN DAN SARAN	28
DAFTAR ACUAN	29



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Tabel Metode Pengukuran Aktivitas Sistem Imun	15
Tabel 3.1 Tabel Pembagian Kelompok Hewan Coba	21
Tabel 4.1 Tabel Perubahan Tebal Kaki Tikus Setelah Pemberian Antigen	24
Tabel 4.2 Tabel Perbedaan Antara Seluruh Kelompok Hewan Uji pada T ₄	25
Tabel 4.3 Tabel Perbedaan Antara Seluruh Kelompok Hewan Uji pada T ₂₄	26



DAFTAR GAMBAR

Gambar 4.1	Meniran (<i>Phyllanthus niruri</i> L.)	33
Gambar 4.2	Jinten Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	33
Gambar 4.3	Grafik persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Tikus 4 Jam Setelah Pemberian Antigen	34
Gambar 4.4	Grafik persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Tikus 24 Jam Setelah Pemberian Antigen	34
Gambar 4.5	Grafik Plot Persentase Perubahan Tebal Kaki Tikus Terhadap Waktu	35



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Penentuan Dosis Ekstrak Meniran dan Jinten Hitam	36
Lampiran 2	Komposisi Suspensi Ekstrak Meniran dan Jinten Hitam	37
Lampiran 3	Data Perubahan tebal Kaki Kiri Belakang Tikus 4 Jam Setelah Pemberian Antigen	39
Lampiran 4	Grafik Data Perubahan tebal Kaki Kiri Belakang Tikus 4 Jam Setelah Pemberian Antigen	40
Lampiran 5	Uji Statistik Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Seluruh Kelompok Hewan Uji 4 Jam setelah Pemberian Antigen	41
Lampiran 6	Uji Statistik Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Seluruh Kelompok Hewan Uji 24 Jam setelah Pemberian Antigen	47
Lampiran 7	Laporan Hasil Ekstrak dari BALITRO	51

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Beberapa dekade terakhir ini terdapat kecenderungan secara global untuk kembali ke alam. Kecenderungan untuk kembali ke alam atau “*Back to Nature*” dalam bidang pengobatan pada herbal ini sangat kuat di negara-negara maju dan berpengaruh besar di negara-negara berkembang seperti Indonesia. Lembaga-lembaga pendidikan dan pelatihan herbal pun kini telah banyak diminati masyarakat. Pentingnya kepedulian kita akan tanaman obat atau herbal yang telah sejak dulu perlu dilestarikan dan diterapkan seperti negara-negara lain yang telah menggunakan herbal sebagai obat leluhur (Sejarah Penggunaan Herbal, 2008).

Saat ini, produk imunostimulan herbal sangat banyak dipromosikan oleh berbagai media iklan di Indonesia. Kandungan imunostimulan herbal tersebut adalah ekstrak tumbuhan yang diklaim sebagai imunostimulan (Baratawidjaja, 2002), antara lain : *Echinacea purpurea*, *Panax ginseng* (Awang, 1999), *Phyllanthus niruri* L. (Maat, 1998), *Morinda sativa* L. (Mengi, 2005), *Sambucus nigra* L. (American Botanical Council, 2004), dan *Nigella sativa* (Gilani, 2004).

Meniran atau *Phyllanthus niruri* merupakan salah satu tanaman obat Indonesia yang sering digunakan sebagai salah satu komponen ataupun sebagai sediaan tunggal dalam produk imunostimulan. Tumbuhan ini tumbuh liar dan tumbuh subur di tempat lembab dan berbatu serta merupakan tumbuhan yang banyak terdapat di wilayah Asia termasuk Indonesia. *Phyllanthus niruri* L. memiliki aktivitas imunostimulan, antihipertensi, antihiperlipidemik, antibakteri, dan hepatoprotektor (Bagalkotkar, *et al.* 2006).

Jinten hitam banyak digunakan di kawasan Timur Tengah dan Asia Barat. jinten banyak digunakan untuk pengobatan hipertensi, diabetes, mengatasi masalah pernafasan, sakit perut dan saluran pencernaan, ginjal, dan meningkatkan kekebalan tubuh. Minyak jinten hitam dilaporkan mempunyai sifat anti tumor, antioksidan, anti inflamasi, anti bakteri dan menstimulasi sistem imun tubuh. (Ahirwar, *et al.* 2009)

Penggunaan kombinasi beberapa jenis obat, herbal, ataupun bahan aktif untuk tujuan terapi dan sebagai suplemen telah lama dilakukan. Terapi yang menggunakan kombinasi tersebut antara lain TBC, diabetes, hipertensi, dan HIV-AIDS. Penambah daya tahan tubuh dan multivitamin merupakan contoh suplemen yang mengandung kombinasi beberapa bahan aktif. Kombinasi obat atau herbal biasanya dilakukan dengan menggabungkan beberapa obat yang dosisnya diturunkan. Kombinasi obat atau herbal ini dilakukan untuk meningkatkan efek terapeutik dan meminimalisir timbulnya efek samping. Walaupun ekstrak meniran dan jinten hitam telah lama digunakan sebagai imunostimulan tunggal, kombinasi ekstrak meniran dan jinten hitam belum diketahui efeknya sebagai imunostimulan.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas imunostimulasi kombinasi ekstrak etanol meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan jinten hitam (*Nigella sativa* L.) dibandingkan dengan ekstrak tunggal.

1.3 Hipotesis

Pemberian kombinasi ekstrak etanol meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan jinten hitam (*Nigella sativa* L.) menimbulkan aktivitas imunostimulasi yang lebih kuat daripada ekstrak tunggal.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Imunostimulan

Substansi yang dapat meningkatkan aktivitas sistem imun disebut imunostimulan. Tidak seperti vaksin, imunostimulan tidak memiliki hubungan antigenik terhadap patogen spesifik. Akibatnya, aksi ini bersifat nonspesifik dan dipercaya menghasilkan stimulasi *cell-mediated immune factor* (makrofag, granulosit, leukosit) dan mediator yang dikeluarkan oleh sistem imun seluler (Baratawidjaja, 2002). Ketika imunostimulan digunakan, akan selalu ada risiko penekanan fisiologis dari respon imun yang akan menimbulkan eksaserbasi dari proses inflamasi kronik (Schulz, *et al.* 2004).

Obat-obat yang biasa digunakan sebagai imunostimulan contohnya levamisol dan isoprinosin. Levamisol terkadang digunakan sebagai terapi tambahan pada pasien yang menderita kanker pada usus besar, kepala, atau leher (US National Cancer Institute, 2010). Isoprinosin bekerja sebagai imunostimulan dengan cara merangsang terjadinya diferensiasi sel T sehingga meningkatkan sekresi limfokin, meningkatkan aktivitas sel *natural killer*, merangsang pembentukan Interleukin-1, Interleukin-2, dan Interferon gamma (Isoprinosine, 2010). Beberapa tanaman obat juga dapat digunakan sebagai imunostimulan. Tanaman yang biasa digunakan sebagai imunostimulan misalnya meniran (*Phyllanthus niruri*), jinten hitam (*Nigella sativa*), sambiloto (*Andrographis paniculata*), ginseng (*Panax ginseng*). Mekanisme kerja dari tanaman-tanaman tersebut antara lain mengaktifkan sel-sel fagositosis, stimulasi limfosit, dan perangsangan respon imun non spesifik (Schulz, *et al.* 2004).

2.2 Respon Imun

2.2.1 Respon Imun Nonspesifik

Sistem imun nonspesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme, oleh karena dapat memberikan respon langsung terhadap antigen, sedang sistem imun spesifik membutuhkan waktu untuk mengenal antigen terlebih dahulu sebelum dapat memberikan responnya. Sistem tersebut disebut nonspesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroorganisme tertentu, tapi telah ada dan siap berfungsi sejak lahir yang berupa permukaan tubuh dan berbagai komponen dalam tubuh. Komponen-komponen sistem imun nonspesifik dapat dibagi sebagai berikut : pertahanan fisik dan mekanik, pertahanan biokimia, pertahanan humoral, pertahanan selular (Baratawidaja, 2002).

a. Pertahanan fisik dan mekanik

Sistem pertahanan fisik dan mekanik ini berupa kulit, selaput lendir, silia saluran nafas, batuk dan bersin. Sistem pertahanan ini akan mencegah masuknya berbagai kuman patogen kedalam tubuh (Baratawidaja, 2002).

b. Pertahanan biokimia

Kebanyakan mikroorganisme tidak dapat menembus kulit yang sehat, namun beberapa diantaranya dapat masuk ke dalam tubuh melalui kelenjar sebaceous dan folikel rambut. Akan tetapi dengan adanya pH asam dari keringat dan sekresi sebaceous yang mempunyai efek antimikrobia akan mengurangi kemungkinan infeksi melalui kulit. Bahan yang disekresi mukosa saluran nafas dan telinga berperan pula dalam pertahanan tubuh secara biokimiawi. Lisozim dalam keringat, ludah, air mata, dan air susu melindungi tubuh terhadap berbagai kuman gram positif oleh karena dapat menghancurkan dinding selnya. Air susu

ibu mengandung laktoferin dan asam neuraminik yang mempunyai sifat antibakterial terhadap *E. coli* dan *Staphylococcus* (Baratawidaja, 2002).

Asam hidroklorida dalam lambung, enzim proteolitik dan empedu dalam usus halus membantu menciptakan lingkungan yang dapat mencegah infeksi beberapa mikroorganisme. Demikian pula pH yang rendah dari vagina, spermin dalam semen dapat mencegah tumbuhnya beberapa mikroorganisme (Baratawidaja, 2002).

Beberapa bahan yang dilepaskan oleh leukosit, lisozim yang dilepaskan makrofag dapat menghancurkan kuman Gram negatif. Laktoferin dan transferin dalam serum dapat mengikat zat besi yang dibutuhkan untuk hidup kuman *Pseudomonas* (Baratawidaja, 2002).

c. Pertahanan humoral

Berbagai bahan dalam sirkulasi berperan pada pertahanan humoral. Bahan-bahan tersebut adalah komplemen, Interferon, dan *C-Reactive Protein* (CRP) (Baratawidaja, 2002).

Komplemen berperan dalam meningkatkan fagositosis (opsonisasi) dan mempermudah destruksi bakteri dan parasit oleh karena komplemen dapat menghancurkan membran sel beberapa bakteri, dapat melepas bahan kemotaktik yang mengerahkan makrofag ke tempat bakteri, dapat mengendap pada permukaan bakteri dan memudahkan makrofag untuk mengenal (opsonisasi) dan memakannya. Keadaan tersebut merupakan fungsi imun nonspesifik, tetapi dapat pula terjadi atas pengaruh respon imun spesifik (Baratawidaja, 2002).

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-sel di sekitar sel yang terinfeksi virus sehingga menjadi resisten terhadap virus. Di samping itu, interferon juga dapat mengaktifkan sel *Natural Killer* (sel NK). Sel yang terinfeksi virus atau menjadi ganas akan menunjukkan perubahan pada permukaannya. Perubahan tersebut akan dikenal oleh sel NK yang

kemudian akan membunuhnya. Dengan demikian penyebaran virus dapat dicegah (Baratawidaja, 2002).

CRP merupakan salah satu contoh dari protein fase akut, yaitu berbagai protein yang kadarnya dalam darah meningkat pada infeksi akut. CRP meningkat 100 kali atau lebih dan berperan pada imunitas nonspesifik yang dengan bantuan Ca^{2+} dapat mengikat berbagai molekul antara lain fosforilkolin yang ditemukan pada permukaan bakteri dan jamur, kemudian mengikat komplemen. CRP juga mengikat protein C dari *Pneumococcus*. Maka dengan demikian CRP berupa opsonin yang memudahkan fagositosis. Adanya CRP yang tetap tinggi menunjukkan infeksi yang persisten. Protein fase akut lainnya adalah komponen C3 dan C4 yang berfungsi sebagai opsonin, α 1-antitripsin, haptoglobin, dan fibrinogen yang berperan pada laju endap darah dimana pada infeksi meningkat jauh lebih lambat dibandingkan dengan CRP (Baratawidaja, 2002).

d. Pertahanan selular

Fagosit, makrofag, sel NK, dan sel K berperan dalam sistem imun nonspesifik selular. Meskipun berbagai sel dalam tubuh dapat melakukan fagositosis, tetapi sel utama yang berperan dalam pertahanan nonspesifik adalah sel mononukleus (monosit dan makrofag) serta sel polimorfonukleus atau granulosit. Kedua sel tersebut tergolong fagosit dan berasal dari sel asal hemopoietik. Granulosit hidup pendek, mengandung granul yang berisikan enzim hidrolitik. Beberapa granul berisikan pula laktoferin yang bersifat bakterisidal. Fagositosis yang efektif pada invasi kuman lebih dini dapat mencegah timbulnya penyakit. Dalam kerjanya, sel fagosit juga berinteraksi dengan komplemen dan sistem imun spesifik. Penghancuran kuman terjadi dalam beberapa tingkat sebagai berikut : kemotaksis, menangkap, memakan (fagositosis), membunuh, dan mencerna (Baratawidaja, 2002).

Makrofag dapat hidup lama, mempunyai beberapa granul dan melepaskan berbagai bahan, antara lain lisozim, komplemen, interferon yang semuanya memberikan kontribusi dalam pertahanan nonspesifik dan spesifik. *Large granular lymphocyte* (LGL) ditemukan dalam darah yang merupakan 2-6 % dari leukosit perifer dengan ciri-ciri mengandung banyak sekali sitoplasma, granul sitoplasma azurofilik, pseudopodia, dan nukleus eksentrik. Sebagian besar sel LGL ini menunjukkan sifat sel NK dan *antibody dependent cell cytotoxicity* (ADCC). Populasi *cytotoxic T lymphocyte* (CTL) yang diaktifkan sering berupa LGL. Di samping itu CTL sering ditemukan dalam preparat LGL. Sasaran LGL utama adalah sel kanker dan virus. Mekanisme pengenalan antigen oleh sel NK dan LGL berbeda, tetapi mekanisme efekturnya adalah sama yaitu melalui lisis oleh mediator sitolitik (Baratawidaja, 2002).

2.2.2 Respon Imun Spesifik

Berbeda dengan sistem imun nonspesifik, sistem imun spesifik mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Benda asing yang pertama kali muncul dalam tubuh segera dikenal oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitisasi sel-sel sistem imun tersebut. Bila sel sistem imun tersebut berpapasan 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. Sistem imun spesifik dapat bekerja tanpa bantuan sistem imun nonspesifik untuk menghancurkan benda asing yang berbahaya bagi tubuh, tetapi pada umumnya terjalin kerjasama yang baik antara antibodi-komplemen-fagosit dan antara sel T - makrofag (Sherwood, 2001). Komponen-komponen sistem imun spesifik dapat dibagi sebagai berikut :

a. Komponen humoral

Agen berperan dalam sistem imun spesifik humoral adalah limfosit B atau sel B. Sel B tersebut berasal dari sel asal multipoten. Bila sel B dirangsang oleh benda asing, maka sel tersebut akan berproliferasi dan berkembang menjadi sel plasma yang dapat membentuk antibodi. Antibodi yang dilepas dapat ditemukan di dalam serum. Fungsi utama antibodi ini adalah pertahanan terhadap infeksi ekstraseluler virus dan bakteri serta menetralkan toksinnya (Sherwood, 2001).

b. Komponen selular

Agen yang berperan dalam sistem imun spesifik selular adalah limfosit T atau sel T. Sel tersebut juga berasal dari sel asal yang sama seperti sel B. Pada orang dewasa, sel T dibentuk di dalam sumsum tulang tetapi proliferasi dan diferensiasinya terjadi di dalam kelenjar timus atas pengaruh berbagai faktor dari timus. Faktor timus yang disebut timosin dapat ditemukan dalam peredaran darah sebagai hormon asli (*true*) dan dapat memberikan pengaruhnya terhadap diferensiasi sel T di perifer. Berbeda dengan sel B, sel T terdiri atas beberapa sel subset dengan fungsi yang berlainan. Fungsi utama sistem imun spesifik selular adalah untuk pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraseluler, virus, jamur, parasit, dan keganasan (Sherwood, 2001).

2.3 Imunomodulasi

Imunomodulasi yaitu cara untuk mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu atau untuk menekan yang fungsinya berlebihan. Obat-obatan yang dapat mengembalikan ketidakseimbangan sistem imun disebut imunomodulator. Obat yang sekaligus memperbaiki

fungsi komponen sistem imun yang satu dan menekan fungsi komponen yang lain, dewasa ini belum ditemukan.

Obat golongan imunomodulator bekerja menurut 2 cara, yaitu imunostimulasi dan immunosupresi. Immunosupresi merupakan suatu tindakan untuk menekan respons imun. Kegunaannya di klinik terutama pada transplantasi alat tubuh dalam usaha mencegah reaksi penolakan dan pada penyakit autoimun untuk menghambat pembentukan antibodi. Immunosupresan umumnya tidak ditujukan terhadap antigen spesifik. Contoh obat yang digunakan sebagai immunosupresan adalah kortikosteroid (Baratawidjaja, 2002).

2.4 Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.)

2.4.1 Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Ranunculales
Famili	: Ranunculaceae
Genus	: <i>Nigella</i>
Species	: <i>Nigella sativa</i> L. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1977)

2.4.2 Morfologi

Nigella sativa atau Jintan Hitam Pahit ini merupakan jenis tanaman bunga, tumbuh setinggi 20-50 cm, berbatang tegak, berkayu dan berbentuk bulat menusuk. Daun runcing, bercabang, bergaris (namun garis daunnya tidak seperti benang; tidak seperti ciri daun tumbuhan genus *Nigella* pada umumnya), daunnya kadang-kadang tunggal atau bisa juga majemuk dengan posisi tersebar atau berhadapan. Bentuk daunnya bulat telur berujung lancip.

Di bagian permukaan daunnya terdapat bulu halus. Tumbuhan jintan hitam memiliki bunga yang bentuknya beraturan. Bunga ini kemudian menjadi buah berbentuk bumbung atau buah kurung berbentuk bulat panjang. Bunganya menarik dengan warna biru pucat atau putih, dengan 5-10 mahkota bunga. Buahnya keras seperti buah buni, berbentuk besar, menggebung, berisi 3-7 unit folikel, masing-masing berisi banyak biji atau benih yang sering digunakan manusia sebagai rempah-rempah. Buah ini memiliki rasa pahit yang tajam dan bau seperti buah strawberry. Buah ini digunakan terutama pada permen dan minuman keras (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1977).

2.4.3 Kandungan Kimia

Biji dari *Nigella sativa* mengandung sejumlah ester dari asam lemak tidak jenuh dan alkohol terpen. Beberapa alkaloid juga ditemukan antara lain nigellimin, nigellimin-N-oksida, nigellidin, dan nigellisin. Minyak esensialnya mengandung timokuinon (mencapai 50%), p-simena (40%), dan pinena (mencapai 15%). Derivat terpen lainnya juga ditemukan dalam jumlah kecil antara lain karvakrol, karvon, limonene, 4-terpineol, dan sitronelol (Ahirwar, *et al.*2009).

2.4.4 Efek Farmakologi

Minyak esensial dari *Nigella sativa* dilaporkan memiliki aktivitas diuretik, antihipertensi (Amarouch, *et al.* 2000), antimikroba, hepato-protektif, antidiabetes (Ahirwar, *et al.*2009), antiinflamasi, analgesik (Al-Ghamdi, 2001). Efek sitotoksik dari *Nigella sativa* dilaporkan berasal dari asam lemak berantai panjang (Crooks, Worthon, & Gosheh, 1998). Ekstrak dari *Nigella sativa* juga menunjukkan adanya proteksi terhadap penurunan kadar hemoglobin dan jumlah leukosit pada mencit yang diinduksi cisplatin (Ahirwar, *et al.*2009).

2.4.5 Kontraindikasi

Jinten hitam memiliki efek antifertilitas sehingga pemberian meniran tidak dianjurkan kepada wanita yang ingin hamil atau sedang hamil. Pemberian sediaan yang mengandung jinten hitam juga dikontraindikasikan untuk penderita tekanan darah rendah karena memiliki efek hipotensif (Amarouch, *et al.* 2000). Penggunaan jinten hitam juga menimbulkan efek hipoglikemik sehingga dikontraindikasikan untuk individu yang mengkonsumsi obat anti diabetik (Ahirwar, *et al.* 2009).

2.5 Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

2.5.1 Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Class	: Dicotyledoneae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Phyllanthus</i>
Spesies	: <i>Phyllanthus niruri</i> L. (Heyne, 1987)

2.5.2 Morfologi

Meniran merupakan tumbuhan terna semusim, tegak, tinggi hingga 1 m. Batang bulat, liat, tidak berbulu, licin, hijau keunguan, diameter \pm 3 mm, bercabang dengan tangkai dan cabang-cabang hijau keunguan. Daun majemuk berseling, warna hijau, anak daun 15-24 helai, bulat telur, tepi rata, pangkal membulat, ujung tumpul, di bawah ibu tulang daun sering terdapat butiran kecil-kecil, menggantung. Bunga tunggal. Daun kelopak berbentuk

bintang, mahkota putih kecil. Buah kotak, bulat, hijau keunguan. Biji kecil, keras, bentuk ginjal, coklat tua (Heyne, 1987).

2.5.3 Kandungan Kimia

Meniran mengandung sejumlah flavonoid seperti kuersetin, kuersitrin, isokuercitrin, astragalin, dan rutin, serta mengandung kaempferol-4-ramnopiranosid, eridiktol-7-ramnopiranosid, nirurin, nirurisd, filantin, hipofilantin, triterpen, dan alkaloid sekurin (Bagalkotkar, *et al.* 2006).

2.5.4 Efek Farmakologi

Meniran memiliki aktifitas sebagai imunostimulan, analgesik, antipiretik, ACE inhibitor, antibakteri, antifungal, antiviral, inaktivator antigen permukaan hepatitis B, penghambat *reverse transcriptase*, antihepatotoksik (Chatterjee & Sil, 2006), antihiperkolesterolemik, antihiperlipemik, antihiperqlikemik (Chander, Khanna, & Rizvi 2002), antihipertensi, inhibitor aldosa reduktase, antimutagenik, antikarsinogenik, sitotoksik, antitumor, penghambat aberasi kromosom, karminatif, stomachic, kardiotoksik, antidiare, dan spasmolitik (Bagalkotkar, *et al.* 2006).

2.5.5 Kontraindikasi

Meniran memiliki efek antifertilitas sehingga pemberian meniran tidak dianjurkan kepada wanita yang ingin hamil atau sedang hamil. Pemberian sediaan yang mengandung meniran juga dikontraindikasikan untuk penderita tekanan darah rendah karena memiliki efek hipotensif. Penggunaan meniran juga menimbulkan efek hipoglikemik sehingga dikontraindikasikan untuk individu yang mengkonsumsi obat anti diabetik (Chander, Khanna, & Rizvi 2002).

2.6 Metode Pengukuran Aktivitas Sistem Imun

Pengukuran aktivitas sistem imun dapat dilakukan dengan mengukur parameter-parameter imunologik yang bersifat non-spesifik maupun spesifik. Parameter imunologik tersebut dapat berupa fenomena respon, fenomena seluler, maupun fenomena molekuler. Metode-metode yang biasa digunakan untuk uji aktivitas imunostimulan suatu zat dapat dilihat pada tabel 2.1.

2.6.1 Uji Hipersensitivitas Tipe Lambat

Metode ini memanfaatkan proses *Cell Mediated Immunity* (CMI). Limfosit T disensitisasi dengan cara pemberian suatu antigen secara sistemik. Setelah jangka waktu tertentu, antigen yang sama diberikan kembali secara subkutan. Sel T yang telah tersensitisasi berubah menjadi limfoblas dan mengeluarkan limfokin. Hal ini menyebabkan sel-sel fagosit bergerak ke tempat penyuntikan antigen dan menyebabkan terjadinya reaksi defensif yang berupa inflamasi. Reaksi inilah yang dimanfaatkan untuk mengukur aktivitas sistem imun. Metode ini merupakan metode yang sederhana dan tidak memerlukan alat-alat yang khusus, namun peneliti harus sangat teliti dalam pengambilan data agar tidak terjadi bias (Lotze, 2005).

2.6.2 Pengukuran Aktivitas Makrofag

Makrofag merupakan salah satu lini pertahanan tubuh. Aktivitas dari makrofag ini dapat diukur dengan cara memberikan suatu antigen atau benda asing kemudian aktivitas makrofag dapat dilihat secara manual menggunakan mikroskop ataupun menggunakan alat seperti pada uji bersihan karbon. Pada uji bersihan karbon, peningkatan kecepatan dan kemampuan eliminasi karbon dalam darah menunjukkan peningkatan kecepatan fagositosis sebagai salah satu respon imun non-spesifik.

Pengukuran aktivitas makrofag ini juga dapat dilakukan secara *in vitro* yaitu dengan *chemoluminescence assay* dan *microscopic smear test* (Jurcic & Wagner, 1991).

2.6.3 Pengukuran Antibodi

Antibodi dapat dijadikan parameter untuk mengukur aktivitas sistem imun. Antibodi dapat diukur secara langsung menggunakan reagen tertentu atau dengan melihat kompleks antigen-antibodi yang terbentuk. Reagen yang biasa dipakai untuk mengukur antibodi adalah *Nitroblue Tetrazolium* (NBT). Reagen ini akan direduksi oleh formazan pada reaksi dengan radikal oksigen yang diproduksi dari neutrofil dan monosit. Pemeriksaan produksi radikal oksigen dengan menggunakan NBT dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 540 nm. Antibodi juga dapat diukur dengan melihat kompleks antigen-antibodi yang terbentuk menggunakan metode penentuan titer antibodi. Penentuan titer antibodi merupakan suatu metode hemaglutinasi sel darah merah domba sebagai antigen akibat reaksi dengan antibodi spesifik. Komponen sistem imun yang diuji adalah IgM atau IgG (Puri, *et al.*, 1993). Metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) juga dapat digunakan untuk mengukur antibodi antara lain *Tumour Necrosis Factor* (TNF) dan imunoglobulin (Jurcic & Wagner, 1991; Lotze, 2005).

2.6.4 Uji Respon Imun Non-Spesifik Humoral

Metode ini didasarkan kepada peningkatan substansi yang bersifat imunoreaktif yang berperan dalam respon imun. Metode yang umum digunakan yaitu uji komplemen, uji migrasi leukosit, dan uji interferon. Uji komplemen dilakukan berdasarkan terjadinya reaksi hemolisis akibat peranan komplemen pada media semi solid. Uji migrasi leukosit dilakukan berdasarkan terjadinya hambatan migrasi leukosit akibat pengaruh faktor

kemotaksis. Uji interferon dengan melihat respon produksi interferon (Jurcic & Wagner, 1991)

Tabel 2.1 Tabel Metode Pengukuran Aktivitas Sistem Imun

Variasi Pengujian	Metode	Komponen Sistem Imun yang diuji
Uji Fagositosis, <i>in vivo</i>	Uji Bersihan Karbon	Makrofag
Uji Fagositosis, <i>in vitro</i>	<i>Microscopic smear test</i> <i>Chemoluminescence assay</i>	Granulosit Granulosit atau makrofag
Uji Kemotaksis, <i>in vitro</i>	Uji kemotaksis pada media semi solid dengan kemoatrak-tan f-metionin-leusin dan fenilalanin (f-MLP)	Neutrofil, makrofag
Uji proliferasi limfosit, <i>in vitro</i>	Uji proliferasi limfosit dengan mitogen Concanavalin-A	Limfosit T
	Uji proliferasi limfosit dengan mitogen lipopolisakarida	Limfosit B
	Uji proliferasi berdasarkan jumlah sel yang diisolasi	Limfosit total
Uji toksisitas sel NK	Uji toksisitas sel NK menggunakan sel target seperti SV 49 (<i>Mouse Lymphosarcoma</i>)	Sel NK
Uji hemolitik total komplemen	Hemolitik total komplemen pada media semi solid	H ₁₀₀ Komplemen
Uji leukosit	<i>Leucocyte migration inhibition test</i>	Leukosit
Uji interferon	<i>Interferon induction test</i>	Interferon
Uji hemaglutinasi	Hemaglutinasi dengan sel darah merah domba	Titer antibodi primer IgM Titer antibodi sekunder IgG

BAB 3 BAHAN DAN CARA KERJA

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI selama lebih kurang dua bulan dari Oktober 2010 sampai November 2010.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah sebagai berikut: sonde lambung, spuit (Terumo), jarum suntik (Terumo), jangka sorong, timbangan analitik (Ohaus), dan alat-alat gelas.

3.2.2 Bahan

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus albino jantan galur *Sprague Dawley* berumur 2 – 3 bulan dengan berat badan 180-220 gram sebanyak dua puluh empat ekor. Hewan uji diperoleh dari Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

Bahan yang digunakan adalah sebagai berikut: ekstrak Jinten Hitam dan Meniran didapatkan dari BALITRO, Bogor, *Sheep Red Blood Cell* (SRBC) yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi FKUI, Akuades, Larutan NaCl Fisiologis, CMC-Na.

3.3 Cara Kerja

3.3.1 Penetapan Dosis

Variasi dosis pada kelompok hewan uji diperlukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan aktivitas imunostimulasi pada dosis yang berbeda. Dosis tunggal meniran dipilih berdasarkan data uji klinis yang telah dilakukan yaitu 150 mg ekstrak per hari (Sarisetyaningtyas, 2005). Dosis tunggal jinten hitam dipilih berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yaitu 50 mg/kg BB tikus (El-Daly, 1996). Pemilihan dosis ini disesuaikan untuk melihat aktivitas imunostimulan yang ditimbulkan yang kemudian akan dibandingkan dengan pemberian kombinasi ekstrak.

Ekstrak etanol meniran diberikan dalam bentuk suspensi sesuai dosis oral efektif pada manusia (150 mg) yang dikonversikan berdasarkan konversi Paget dan Barnes (Luciana, 2010) yaitu dosis untuk setiap 200 g berat badan tikus setara dengan 0,018 kali dosis manusia dan dikalikan faktor farmakokinetik 10.

$$\begin{aligned} \text{Dosis ekstrak etanol meniran Tikus (200 g)} &= 150 \text{ mg} \times 0,018 \times 10 = \\ &27 \text{ mg/tikus 200g.} \end{aligned}$$

Ekstrak etanol Jinten hitam diberikan dalam bentuk suspensi sesuai dosis oral efektif pada hewan uji berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yaitu 50 mg/kg BB tikus.

$$\begin{aligned} \text{Dosis ekstrak etanol jinten hitam Tikus (200 g)} &= 50 \text{ mg/kg BB} \times 0,2 \text{ kg} = \\ &10 \text{ mg/tikus 200 g} \end{aligned}$$

Kombinasi dosis ekstrak yang diberikan dibagi menjadi 3 variasi dosis. Kombinasi dosis I merupakan gabungan dari $\frac{1}{2}$ dosis ekstrak meniran dan $\frac{1}{2}$ dosis ekstrak jinten hitam.

Dosis Meniran kombinasi I = $0,5 \times 27 \text{ mg} = 13,5 \text{ mg/tikus } 200 \text{ g}$

Dosis Jinten Hitam kombinasi I = $0,5 \times 10 = 5 \text{ mg/tikus } 200 \text{ g}$

Kombinasi dosis II merupakan gabungan dari $\frac{1}{4}$ dosis ekstrak meniran dan $\frac{3}{4}$ dosis ekstrak jinten hitam.

Dosis Meniran kombinasi II = $0,25 \times 27 \text{ mg} = 6,75 \text{ mg/tikus } 200 \text{ g}$

Dosis Jinten Hitam kombinasi II = $0,75 \times 10 \text{ mg} = 7,5 \text{ mg/tikus } 200 \text{ g}$

Kombinasi dosis III merupakan gabungan dari $\frac{3}{4}$ dosis ekstrak meniran dan $\frac{1}{4}$ dosis ekstrak jinten hitam.

Dosis Meniran kombinasi III = $0,75 \times 27 \text{ mg} = 20,25 \text{ mg/tikus } 200 \text{ g}$

Dosis Jinten Hitam kombinasi III = $0,25 \times 10 = 2,5 \text{ mg/tikus } 200 \text{ g}$

3.3.2 Persiapan Bahan Uji

a. Pembuatan suspensi ekstrak meniran dosis tunggal

CMC-Na ditimbang sebanyak 0,5 g dikembangkan dalam 10 ml akuades. Ekstrak meniran ditimbang sebanyak 5,4 g di kaca arloji. Ekstrak diencerkan sedikit demi sedikit dengan CMC-Na yang telah dikembangkan sambil dihomogenkan. Cukupkan dengan akuades hingga 100 ml sehingga didapatkan suspensi dengan konsentrasi 54 mg/ml.

b. Pembuatan suspensi ekstrak jinten hitam dosis tunggal

CMC-Na ditimbang sebanyak 0,5 g dikembangkan dalam 10 ml akuades. Ekstrak jinten hitam ditimbang sebanyak 2 g di kaca arloji.

Ekstrak diencerkan sedikit demi sedikit dengan CMC-Na yang telah dikembangkan sambil dihomogenkan. Cukupkan dengan akuades hingga 100 ml sehingga didapatkan suspensi dengan konsentrasi 20 mg/ml.

c. Pembuatan suspensi kombinasi ekstrak I

CMC-Na ditimbang sebanyak 0,5 g lalu dikembangkan dalam 10 ml akuades. Ekstrak Meniran ditimbang 2,7 g di kaca arloji. Ekstrak jinten hitam ditimbang 1 g di kaca arloji. Masing-masing ekstrak diencerkan sedikit demi sedikit dengan CMC-Na yang telah dikembangkan sambil dihomogenkan. Cukupkan dengan akuades hingga 100 ml sehingga didapatkan suspensi dengan konsentrasi ekstrak meniran 27 mg/ml dan konsentrasi ekstrak jinten hitam 5 mg/ml.

d. Pembuatan suspensi kombinasi ekstrak II

CMC-Na ditimbang sebanyak 0,5 g lalu dikembangkan dalam 10 ml akuades. Ekstrak Meniran ditimbang 1,4 g di kaca arloji. Ekstrak jinten hitam ditimbang 1,5 g di kaca arloji. Masing-masing ekstrak diencerkan sedikit demi sedikit dengan CMC-Na yang telah dikembangkan sambil dihomogenkan. Cukupkan dengan akuades hingga 100 ml sehingga didapatkan suspensi dengan konsentrasi ekstrak meniran 14 mg/ml dan konsentrasi ekstrak jinten hitam 15 mg/ml.

e. Pembuatan suspensi kombinasi ekstrak III

CMC-Na ditimbang sebanyak 0,5 g lalu dikembangkan dalam 10 ml akuades. Ekstrak Meniran ditimbang 4,2 g di kaca arloji. Ekstrak jinten hitam ditimbang 0,5 g di kaca arloji. Masing-masing ekstrak diencerkan sedikit demi sedikit dengan CMC-Na yang telah dikembangkan sambil dihomogenkan. Cukupkan dengan akuades hingga 100 ml sehingga didapatkan suspensi dengan konsentrasi ekstrak meniran 42 mg/ml dan konsentrasi ekstrak jinten hitam 5 mg/ml.

f. Pembuatan suspensi SRBC

SRBC dicuci sebanyak tiga kali dengan larutan NaCl fisiologis kemudian disuspensikan dan konsentrasinya disesuaikan menjadi $2,5 \times 10^8$ sel/ml dengan cara 1 ml SRBC yang telah dicuci disuspensikan dengan NaCl fisiologis hingga volumenya 250 ml.

3.3.3 Persiapan Hewan Uji

Tikus dipilih sebagai hewan uji dengan beberapa pertimbangan yaitu harganya relatif murah, mudah didapat, mudah dalam penanganan dan pemeliharaannya dibanding hewan uji lain seperti anjing atau kelinci. Tikus diaklimatisasi selama 14 hari. Aklimatisasi bertujuan agar tikus dapat beradaptasi dengan lingkungan baru dan meminimalisir efek stress pada tikus yang dapat berpengaruh pada metabolisme sehingga dapat mengganggu penelitian (Harmita, 2008).

Setiap hari tikus diberi makan yaitu pakan ikan ± 125 g dan ± 300 ml air/kandang berisi 4 ekor tikus kemudian ditimbang berat badannya. Tikus yang digunakan dalam penelitian harus sehat dengan tanda-tanda bulu tidak berdiri dan berwarna putih bersih, mata jernih, tingkah laku normal, dan mengalami peningkatan berat badan dalam batas tertentu yang diukur secara rutin.

Tikus dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus (Tabel 3.1). Tikus yang sudah dipilih dikelompokkan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 kelompok perlakuan sehingga jumlah ulangan tiap kelompok ditentukan berdasarkan rumus empiris Federer (Luciana, 2010) sebagai berikut:

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

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t= jumlah kelompok

n = banyak sampel

Tabel 3.1 Tabel Pembagian Kelompok Hewan Coba

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Tikus (ekor)
Kelompok 1	Diberikan suspensi kontrol.	4
Kelompok 2	Diberikan suspensi ekstrak jinten hitam.	4
Kelompok 3	Diberikan suspensi ekstrak meniran.	4
Kelompok 4	Diberikan suspensi kombinasi ekstrak I	4
Kelompok 5	Diberikan suspensi kombinasi ekstrak II	4
Kelompok 6	Diberikan suspensi kombinasi ekstrak III	4

3.3.4 Uji Hipersensitivitas Tipe Lambat

Uji aktivitas imunostimulan dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain metode pengukuran titer antibodi, metode adhesi neutrofil, uji hipersensitivitas tipe lambat, pengukuran antibodi dengan NBT, atau dengan mengukur parameter imunologi yang lain. Pada penelitian ini, metode yang digunakan adalah uji hipersensitivitas tipe lambat. Prinsip dari metode ini adalah perangsangan pembentukan antibodi dengan cara imunisasi menggunakan antigen. Antigen yang sama akan diberikan kembali setelah jangka waktu tertentu untuk melihat respon imun yang terjadi. Metode ini dipilih karena sederhana, murah, mudah dilakukan, dan tidak memerlukan alat-alat yang khusus.

Prosedur : Penelitian ini berlangsung selama 16 hari dari tanggal 1 November 2010 hingga 16 November 2010. Ekstrak herbal diberikan secara peroral dalam bentuk suspensi selama 14 hari untuk merangsang sistem imun. Pada hari kedelapan seluruh hewan uji diimunisasi menggunakan SRBC secara intraperitoneal sebagai antigen. SRBC yang disuntikkan diatur konsentrasinya dengan cara mengencerkan 1 ml SRBC dengan larutan NaCl fisiologis hingga volumenya 250 ml sehingga jumlah selnya menjadi $2,5 \times 10^8$ sel/ml mengikuti perbandingan antara konsentrasi SRBC dan jumlah sel pada penelitian sebelumnya (Kim, 1998). Dalam hal ini, komponen sistem imun yang disensitisasi adalah sel T. Pada hari kelima belas, tebal kaki kiri belakang hewan uji diukur menggunakan jangka sorong dan SRBC disuntikkan kembali secara subkutan di kaki kiri belakang hewan uji. Pengukuran tebal kaki kiri belakang tikus dilakukan kembali 4 jam dan 24 jam setelah pemberian antigen secara subkutan.

3.3.5 Pengolahan Data

Data diolah secara statistik menggunakan SPSS 15.0. Analisis yang digunakan adalah uji distribusi normal (uji *Shapiro-Wilk*) dan uji homogenitas (uji *Levene*). Jika data yang diperoleh dinyatakan terdistribusi normal dan homogen, uji dilanjutkan dengan analisis varian satu arah (ANOVA). Jika terdapat perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Jika data yang diperoleh dinyatakan tidak terdistribusi normal dan homogen, uji dilanjutkan dengan analisis non parametrik *Kruskal-Wallis*. Jika terdapat perbedaan yang bermakna, uji dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

BAB 4

HASIL PERCOBAAN DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, uji aktivitas imunostimulan dilakukan dengan uji hipersensitivitas tipe lambat. Metode ini dipilih karena sederhana, mudah dilakukan, tidak memerlukan alat-alat khusus atau bahan yang mahal, dan dapat memberikan hasil yang cukup akurat.

Ekstrak diberikan dalam lima kelompok dosis: meniran tunggal, jinten hitam tunggal, kombinasi 1, kombinasi 2, dan kombinasi 3. Dosis tunggal meniran dipilih berdasarkan data uji klinis yang telah dilakukan yaitu 150 mg ekstrak per hari (Sarisetyaningtyas, 2005). Dosis tunggal jinten hitam dipilih berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yaitu 50 mg/kg BB tikus (El-Daly, 1996). Kombinasi dosis ekstrak yang diberikan dibagi menjadi 3 variasi dosis. Dosis kombinasi 1 merupakan gabungan dari $\frac{1}{2}$ dosis ekstrak meniran dan $\frac{1}{2}$ dosis ekstrak jinten hitam. Dosis kombinasi 2 merupakan gabungan dari $\frac{1}{4}$ dosis ekstrak meniran dan $\frac{3}{4}$ dosis ekstrak jinten hitam. Dosis kombinasi 3 merupakan gabungan dari $\frac{3}{4}$ dosis ekstrak meniran dan $\frac{1}{4}$ dosis ekstrak jinten hitam. Pemilihan dosis ini disesuaikan untuk melihat aktivitas imunostimulan yang ditimbulkan yang kemudian akan dibandingkan dengan pemberian ekstrak tunggal.

Pada pemberian antigen secara subkutan, limfosit T yang telah tersensitisasi berubah menjadi limfoblas dan mengeluarkan limfokin. Hal ini menyebabkan sel-sel fagosit bergerak ke tempat penyuntikan antigen dan menyebabkan terjadinya reaksi defensif yang berupa inflamasi. Reaksi inilah yang digunakan untuk mengukur aktivitas sistem imun pada masing-masing hewan uji. Hasil pengukuran tebal kaki kiri belakang tikus 4 jam dan 24 jam setelah pemberian antigen dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Tabel Persentase Perubahan Tebal Kaki Tikus
Setelah Pemberian Antigen

Kelompok	Persentase Perubahan Tebal Kaki Tikus (%)	
	T ₄	T ₂₄
Kontrol	6,48 ± 1,56	1,23 ± 1,02
Meniran	13,24 ± 1,53	2,65 ± 1,05
Jinten hitam	13,97 ± 2,49	3,21 ± 2,00
Kombinasi 1	15,55 ± 3,91	2,22 ± 1,96
Kombinasi 2	23,36 ± 8,36	6,48 ± 1,99
Kombinasi 3	20,21 ± 5,67	5,48 ± 0,86

Keterangan : T₄=perubahan tebal kaki tikus 4 jam setelah pemberian antigen, T₂₄=perubahan tebal kaki tikus 24 jam setelah pemberian antigen.

4.1 Perubahan Tebal Kaki Tikus 4 Jam Setelah Pemberian Antigen

Dari hasil pengukuran tebal kaki kiri belakang tikus pada waktu 4 jam setelah penyuntikan antigen, didapatkan hasil yang cukup beragam. Hal ini dapat disebabkan oleh variasi biologis dari masing-masing individu. Oleh sebab itu, perlu dilakukan uji statistik untuk mengetahui normalitas distribusi data, homogenitas variasi data, dan perbedaan yang signifikan antar kelompok.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa data terdistribusi normal namun variasinya tidak homogen. Oleh karena itu, dilakukan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* untuk melihat adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok lalu dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* yang hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.2. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok uji lainnya. Hal ini menunjukkan adanya aktivitas imunostimulasi akibat pemberian ekstrak herbal tunggal maupun kombinasi. Kelompok meniran, jinten hitam, dan kombinasi 1 tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas imunostimulasi yang dihasilkan oleh ketiga

kelompok dosis ini relatif sama. Perbedaan yang signifikan ditunjukkan antara kelompok yang diberikan jinten hitam, meniran, dan dosis kombinasi 1 dengan kelompok yang diberikan dosis kombinasi 2 dan 3. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan aktivitas imunostimulasi yang ditimbulkan. Aktivitas imunostimulasi yang timbul dari pemberian ekstrak tunggal dan dosis kombinasi 1 lebih kecil daripada aktivitas yang ditimbulkan akibat pemberian dosis kombinasi 2 dan 3. Hal ini dapat terjadi karena dosis masing-masing ekstrak pada kombinasi 1 tidak dapat menimbulkan aktivitas imunostimulasi yang adekuat.

Tabel 4.2 Tabel Perbedaan Antara Kelompok Hewan Uji pada T₄

Kelompok	Nilai Signifikansi (berbeda jika $\leq 0,05$)					
	Kontrol	Meniran	Jinten Hitam	Kombinasi 1	Kombinasi 2	Kombinasi 3
Kontrol	-	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021
Meniran	0,021	-	0,564	0,564	0,021	0,021
Jinten Hitam	0,021	0,564	-	0,564	0,021	0,149
Kombinasi 1	0,021	0,564	0,564	-	0,021	0,248
Kombinasi 2	0,021	0,021	0,021	0,021	-	0,149
Kombinasi 3	0,021	0,021	0,149	0,248	0,149	-

Keterangan : T₄=perubahan tebal kaki tikus 4 jam setelah pemberian antigen

4.2 Perubahan Tebal Kaki Tikus 24 Jam Setelah Pemberian Antigen

Pengukuran dilakukan kembali 24 jam setelah penyuntikan SRBC. Pada pengukuran kali ini terlihat bahwa telah terjadi penurunan respon inflamasi pada kaki tikus. Data yang diperoleh juga cukup beragam. Hal ini disebabkan oleh adanya variasi biologis dari masing-masing individu. Data perubahan tebal kaki kiri belakang dianalisis secara statistik dan didapatkan bahwa data terdistribusi normal dan variasinya homogen. Selanjutnya dilakukan uji analisis varian satu arah (*one-way ANOVA*) untuk melihat

adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok yang hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Tabel Perbedaan Antara Kelompok Hewan Uji pada T₂₄

Kelompok	Nilai Signifikansi (berbeda jika $\leq 0,05$)					
	Kontrol	Meniran	Jinten Hitam	Kombinasi 1	Kombinasi 2	Kombinasi 3
Kontrol	-	0,188	0,024	0,351	0,000	0,001
Meniran	0,188	-	0,288	0,687	0,002	0,014
Jinten Hitam	0,024	0,288	-	0,150	0,018	0,121
Kombinasi 1	0,351	0,687	0,150	-	0,001	0,006
Kombinasi 2	0,000	0,002	0,018	0,001	-	0,350
Kombinasi 3	0,001	0,014	0,121	0,006	0,350	-

Keterangan : T₄=perubahan tebal kaki tikus 24 jam setelah pemberian antigen

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa tidak ada lagi perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol, meniran, jinten hitam, dan kelompok dosis kombinasi 1. Hal ini menunjukkan terjadinya penurunan respon imun dan inflamasi pada kaki kiri belakang tikus pun sudah tidak terlihat lagi. Hal ini mungkin terjadi karena tidak ada lagi reaksi imunitas yang terjadi pada waktu 24 jam setelah pemberian antigen. Perbedaan yang signifikan terlihat antara kelompok yang diberikan jinten hitam dosis tunggal, dosis kombinasi 2 dan 3 dengan kelompok kontrol, kelompok yang diberikan ekstrak meniran dosis tunggal dan dosis kombinasi 1. Pada kelompok yang diberikan dosis kombinasi 2 dan 3 masih terlihat adanya inflamasi pada kaki yang disuntikkan antigen. Hal ini menandakan masih adanya respon imun akibat pemberian antigen. Data juga menunjukkan bahwa aktivitas imunostimulasi yang ditimbulkan dosis kombinasi 1 lebih kecil dari ekstrak tunggal. Hal ini dapat terjadi karena kadar zat aktif dari ekstrak dalam tubuh hewan uji sudah tidak dapat menghasilkan aktivitas imunostimulasi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol dari meniran dan jinten hitam dengan dosis yang diturunkan juga menimbulkan

efek imunostimulan yang setara dengan efek imunostimulan yang ditimbulkan oleh pemberian ekstrak meniran dalam dosis tunggal maupun ekstrak jinten hitam dalam dosis tunggal. Data yang didapat juga menunjukkan bahwa efek imunostimulan yang ditimbulkan dari pemberian dosis kombinasi 2 lebih besar daripada efek imunostimulan yang ditimbulkan akibat pemberian ekstrak meniran maupun jinten hitam tunggal dan dosis kombinasi 1 dan 3. Dosis kombinasi 2 memiliki aktivitas imunostimulasi yang lebih besar daripada dosis kombinasi 3 karena jinten hitam memiliki aktivitas imunostimulasi yang lebih kuat daripada meniran sehingga $\frac{3}{4}$ dosis jinten ditambah dengan $\frac{1}{4}$ dosis meniran akan menghasilkan aktivitas imunostimulasi yang lebih besar daripada $\frac{3}{4}$ dosis meniran ditambah dengan $\frac{1}{4}$ dosis jinten hitam. Hasil penelitian ini juga menunjukkan respon inflamasi pada pengukuran 4 jam setelah pemberian antigen lebih besar daripada pengukuran 24 jam setelah pemberian antigen. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak etanol meniran dan jinten hitam memiliki pengaruh yang lebih besar terhadap reaksi hipersensitivitas tipe cepat daripada tipe lambat.

Penelitian ini juga memiliki kelemahan yaitu metode yang digunakan hanya dapat mengukur aktivitas limfosit T yang berperan dalam respon imun spesifik seluler sehingga tidak diketahui manfaat kombinasi ekstrak etanol meniran dan jinten hitam ini terhadap respon imun non-spesifik. SRBC yang digunakan sebagai antigen pada penelitian ini tidak diatur konsentrasinya sesuai dengan prosedur yang seharusnya. Namun hal ini tidak memiliki dampak yang signifikan terhadap hasil penelitian.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kombinasi ekstrak etanol dari meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan jinten hitam (*Nigella sativa* L.) menimbulkan aktivitas imunostimulasi pada hewan uji. Dosis kombinasi 2 (6,75 mg ekstrak meniran dan 7,5 mg ekstrak jinten hitam per hewan uji) memiliki aktivitas imunostimulan yang paling kuat dibandingkan dosis kombinasi lainnya maupun ekstrak dalam dosis tunggal. Dosis kombinasi 3 (20,25 mg ekstrak meniran dan 2,5 mg ekstrak jinten hitam per hewan uji) memiliki aktivitas imunostimulan yang lebih kuat daripada dosis kombinasi 1 (13,5 mg ekstrak meniran dan 5 mg ekstrak jinten hitam per hewan uji) dan dosis ekstrak tunggal. Aktivitas imunostimulan dari dosis kombinasi 1 dan dosis ekstrak tunggal tidak memiliki perbedaan yang bermakna.

5.2 Saran

Sebaiknya penyesuaian konsentrasi *Sheep Red Blood Cell* (SRBC) dilakukan dengan menggunakan hemositometer atau spektrofotometer. Sebaiknya dilakukan juga uji aktivitas imunostimulan terhadap respon imun non-spesifik dari kombinasi ekstrak meniran dan jinten hitam.

DAFTAR ACUAN

- Ahirwar D., N. K. Sharma, D. Jhade and S. Gupta. (2009). Medicinal and Pharmacological Potential of *Nigella sativa*: A Review. *Ethnobotanical Review*, 13, 946-955.
- Al-Ghamdi, M.S. (2001). The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*. *J. Ethnopharmacol.*, 76(1), 45-38.
- Amarouch, *et al.* (2000). Diuretic and hypotensive effects of *Nigella sativa* in the spontaneously hypertensive rat. *Therapie*, 55(3), 379-382.
- American Botanical Council. (2004). *The American Botanical Council : the ABC Clinical Guide to Elderberry*. Reprinted from Herbalgram, *J. American Botanical Council*
- ASEAN. (2004). *Standard of ASEAN Herbal Medicines Volume 2*. Jakarta : ASEAN Countries.
- Awang, Dennis VC & J. Janick (ed.). (1999). *Immune Stimulants and Antiviral Botanicals: Echinacea and Ginseng*. Alexandria : American Society for Horticultural Science Press.
- Bagalkotkar, *et al.* (2006). Phytochemicals from *Phyllanthus niruri* Linn. and Their Pharmacological Properties: a Review. *J. Pharm. and Pharmacol.* 5 (12), 1559-1570.
- Baratawidjaja, Karnen Garna. (2002). *Imunologi Dasar*. Jakarta : Balai Penerbit FKUI.
- Chander, R., A. Khanna, & F. Rizvi. (2002). Lipid lowering activity of *Phyllanthus niruri* in hyperlipidemic rats. *J.Ethnopharmacol.* 82(1), 19-22

- Chatterjee, Mary & Parames C. Sil. (2006). Hepatoprotective effect of aqueous extract of *Phyllanthus niruri* on nimesulide-induced oxidative stress in vivo. *Indian J. Biochem. and Biophys.*, 43 (5), 299-305
- Crooks, P.A., D.R.Worthen & O.A.Gosheh. (1998). The In Vitro Anti-tumor Activity of Some Crude and Purified Components of Blackseed, *Nigella sativa* L. *J. Anticancer Res.* 18(3A), 1527-1532.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1977). *Materia Medika Indonesia Jilid II*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dorle, A.K., P.M. Bhurchandi, S.V. Fulzele, S.B. Joshi, V.M. Kanoje. (2002). Immunostimulant Activity of *Ashtamangal Ghrita* in Rats. *Indian J. Pharmacol.*, 34, 194-197.
- El-Daly, Ezzat S. (1996). Protective Effect of Cysteine, Vitamin E, *Crocus sativus*, and *Nigella sativa* on Cisplatin-Induced Rats. *J. Islamic Aca. of Sci.*, 9(4), 105-118.
- Gabhe, S.Y., P.A. Tatke, T.A. Khan. (2006). Evaluation of Immunomodulatory Activity of Methanol Extract of *Ficus Benghalensis* Roots in Rats. *Indian J. Pharmacol.*, 38, 271-275.
- Gilani, Anwar-ul Hassan, Qaiser Jabeen & Muhammad Asad Ullah Khan. (2004). A Review of Medicinal Uses and Pharmacological Activities of *Nigella sativa*. *Pakistan J. Bio. Sci.*, 7 (4), 441-451
- Heyne. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid II*. Jakarta : Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan.
- Isoprinosine*. (2010). Desember 15, 2010. <http://www.naturalelixir.com/isoprinosine.html>
- Kim Hyeon Cheol, Park Bae Keun, & Rhee Jae Ku. (1998). Effect of *Cryptosporidium baileyi* Infection on Antibody Response to SRBC in Chickens. *Korean J. Parasit.*, 36, 33-36.

- Lotze, Michael T. & Angus W. Thomson (Ed). (2005). *Measuring Immunity: Basic Biology and Clinical Assessment*. London : Elsevier.
- Luciana, Olivia. (2010). *Pengaruh Pemberian Kaptopril terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah oleh Metformin HCl pada Tikus Putih Jantan*. Skripsi Program Sarjana Departemen Farmasi Universitas Indonesia, Depok.
- Maat, Suprpto. (1997). *Phyllanthus niruri L. sebagai Immunostimulator pada Mencit*. Rangkuman Disertasi Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya.
- Mengi, S. & S. Nayak. *Evaluation of the Immunostimulant Effects of the Extracts and the Fractions of the Fruits of Morinda citrifolia L*. Pharmacology, sC.U. Shah College of Pharmacy. http://www.aapsj.org/abstracts/AM_2005/AAPS2005-000634.pdf. Diunduh tanggal 25 September 2010
- Puri, Anju, Ragini Saxena, R.P. Saxena, & K.C. Saxena. (1993). Immunostimulant Agents from *Andrographis paniculata*. *J. Natural Prod.*, 56 (7), 995-999.
- Riwidikdo, Handoko. (2008). *Statistik Kesehatan*. Yogyakarta : Mitra Cendikia Press.
- Rowe, Raymond C., Paul J. Sheskey & Marian E. Quinn. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth Edition*. London : Pharmaceutical Press
- Sarisetyaningtyas, Patria Vittarina. (2005). *Uji Klinis Ekstrak Phyllanthus niruri Linn. Sebagai Terapi Ajuvan Varisela pada Anak: Efikasi dan Keamanan*. Tesis Program Dokter Spesialis Departemen Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Sarwono, Jonathan. (2007). *Analisis Data Penelitian Menggunakan SPSS*. Yogyakarta : ANDI
- Sejarah Penggunaan Herbal*. (2008). September 10, 2010. <http://www.roemahobatalami.com/jus-dan-herbal/sejarah-penggunaan-herbal>

Schulz, Volker, Rudolf Hansel, Mark Blumenthal & Varro E. Tyler. (2004). *Rational Phytotherapy : A Reference Guide for Physicians and Pharmacists*. Berlin : Springer-Verlag.

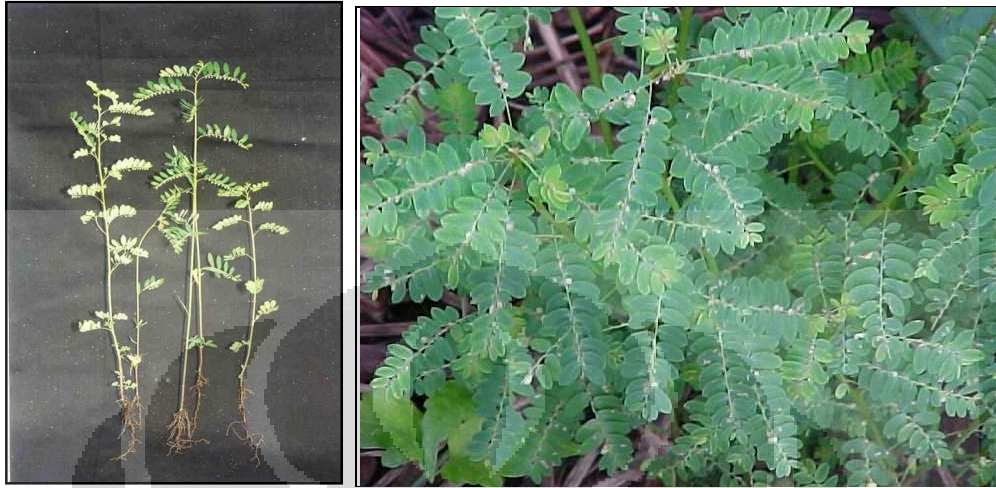
Sherwood, Lauralee. (2001). *Fisiologi Manusia : Dari Sel ke Sistem*. Terj. dari *Human Physiology : From Cell to System*, oleh Brahm U. Pendit. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

US National Cancer Institute. (2010). *Levamisole*. Desember 15, 2010. <http://www.cancer.gov/drugdictionary/?CdrID=39058>





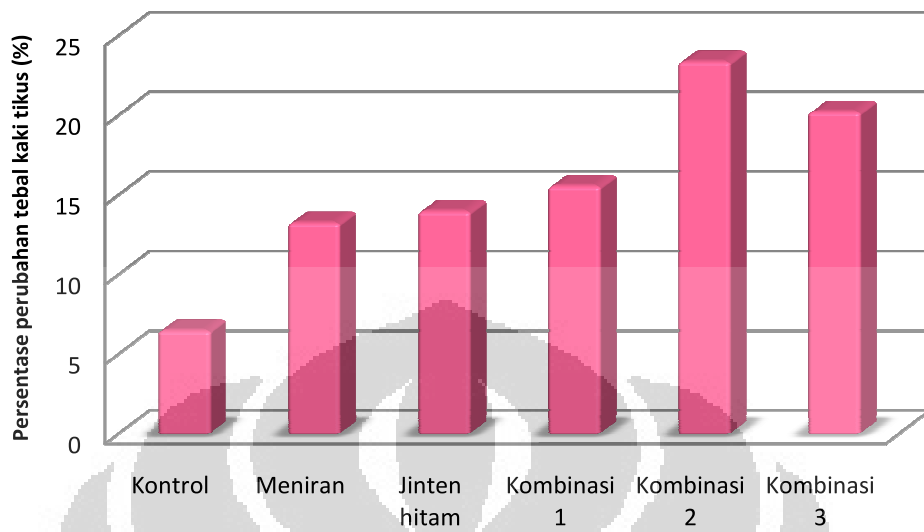
GAMBAR



Gambar 4.1 Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)



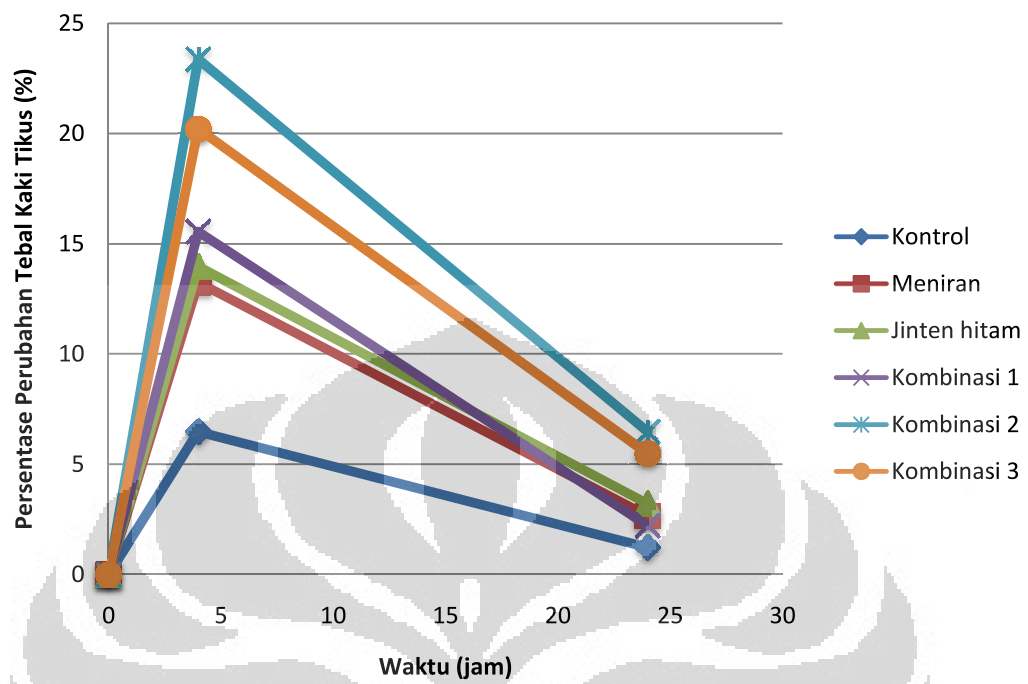
(a) (b)
Gambar 4.2 Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.), tanaman (a) dan
simplisia biji jinten hitam (b).



Gambar 4.3 Grafik persentase perubahan tebal kaki kiri belakang tikus 4 jam setelah pemberian antigen



Gambar 4.4 Grafik persentase perubahan tebal kaki kiri belakang tikus 24 jam setelah pemberian antigen



Gambar 4.5 Grafik Plot Persentase Perubahan Tebal Kaki Tikus Terhadap Waktu



LAMPIRAN

Lampiran 1

Penentuan Dosis Ekstrak Etanol Meniran dan Jinten Hitam

Dosis tunggal ekstrak etanol meniran untuk manusia adalah 150 mg per hari

Faktor konversi dari manusia ke tikus adalah 0,018

Dosis untuk 200 g bb tikus setelah konversi adalah:

$$150 \text{ mg} \times 0,018 = 2,7 \text{ mg} / 200 \text{ g BB Tikus}$$

Faktor farmakokinetik yang digunakan adalah 10 sehingga dosis yang digunakan untuk percobaan adalah:

$$2,7 \text{ mg} \times 10 = 27 \text{ mg} / 200 \text{ g BB Tikus}$$

Dosis tunggal ekstrak etanol jinten hitam berdasarkan penelitian sebelumnya adalah 50 mg/kg BB tikus

Dosis untuk 200 g BB tikus:

$$0,2 \text{ kg} \times 50 \text{ mg/kg BB} = 10 \text{ mg} / 200 \text{ g BB tikus}$$

Kombinasi dosis I merupakan gabungan dari $\frac{1}{2}$ dosis ekstrak meniran dan $\frac{1}{2}$ dosis ekstrak jinten hitam.

$$\text{Dosis Meniran kombinasi I} = 0,5 \times 27 \text{ mg} = 13,5 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis Jinten Hitam kombinasi I} = 0,5 \times 10 = 5 \text{ mg}$$

Kombinasi dosis II merupakan gabungan dari $\frac{1}{4}$ dosis ekstrak meniran dan $\frac{3}{4}$ dosis ekstrak jinten hitam.

$$\text{Dosis Meniran kombinasi I} = 0,25 \times 27 \text{ mg} = 6,75 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis Jinten Hitam kombinasi I} = 0,75 \times 10 = 7,5 \text{ mg}$$

Kombinasi dosis III merupakan gabungan dari $\frac{3}{4}$ dosis ekstrak meniran dan $\frac{1}{4}$ dosis ekstrak jinten hitam.

$$\text{Dosis Meniran kombinasi I} = 0,75 \times 27 \text{ mg} = 20,25 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis Jinten Hitam kombinasi I} = 0,25 \times 10 = 2,5 \text{ mg}$$

Lampiran 2

Komposisi Suspensi Ekstrak Etanol Meniran dan Jinten Hitam

Suspensi ekstrak meniran dosis tunggal

Dosis = 27 mg/200 g BB tikus

Volume yang diberikan ke tikus = 0,5 ml

Ekstrak meniran yang ditimbang = 5,4 g

Volume suspensi yang dibuat = 100 ml

Konsentrasi suspensi yang dibuat = 54 mg ekstrak meniran/ml suspensi

Suspensi ekstrak jinten hitam dosis tunggal

Dosis = 10 mg/200 g BB tikus

Volume yang diberikan ke tikus = 0,5 ml

Ekstrak jinten hitam yang ditimbang = 2 g

Volume suspensi yang dibuat = 100 ml

Konsentrasi suspensi yang dibuat = 20 mg ekstrak jinten hitam/ml suspensi

Suspensi ekstrak kombinasi ekstrak I

Dosis ekstrak meniran = 13,5 mg/200 g BB tikus

Dosis ekstrak jinten hitam = 5 mg/200 g BB tikus

Volume yang diberikan ke tikus = 0,5 ml

Ekstrak meniran yang ditimbang = 2,7 g

Ekstrak jinten hitam yang ditimbang = 1 g

Volume suspensi yang dibuat = 100 ml

Konsentrasi suspensi yang dibuat = 27 mg ekstrak meniran + 10 mg ekstrak jinten hitam/ml suspensi

Suspensi kombinasi ekstrak II

Dosis ekstrak meniran = 6,75 mg/200 g BB tikus

Dosis ekstrak jinten hitam = 7,5 mg/ 200 g BB tikus

Volume yang diberikan ke tikus = 0,5 ml

Ekstrak meniran yang ditimbang = 1,3 g

Ekstrak jinten hitam yang ditimbang = 1,5 g

Volume suspensi yang dibuat = 100 ml

Konsentrasi suspensi yang dibuat = 13,5 mg ekstrak meniran + 15 mg ekstrak jinten hitam/ ml suspensi

Suspensi kombinasi ekstrak III

Dosis ekstrak meniran = 20,25 mg/200 g BB tikus

Dosis ekstrak jinten hitam = 2,5 mg/ 200 g BB tikus

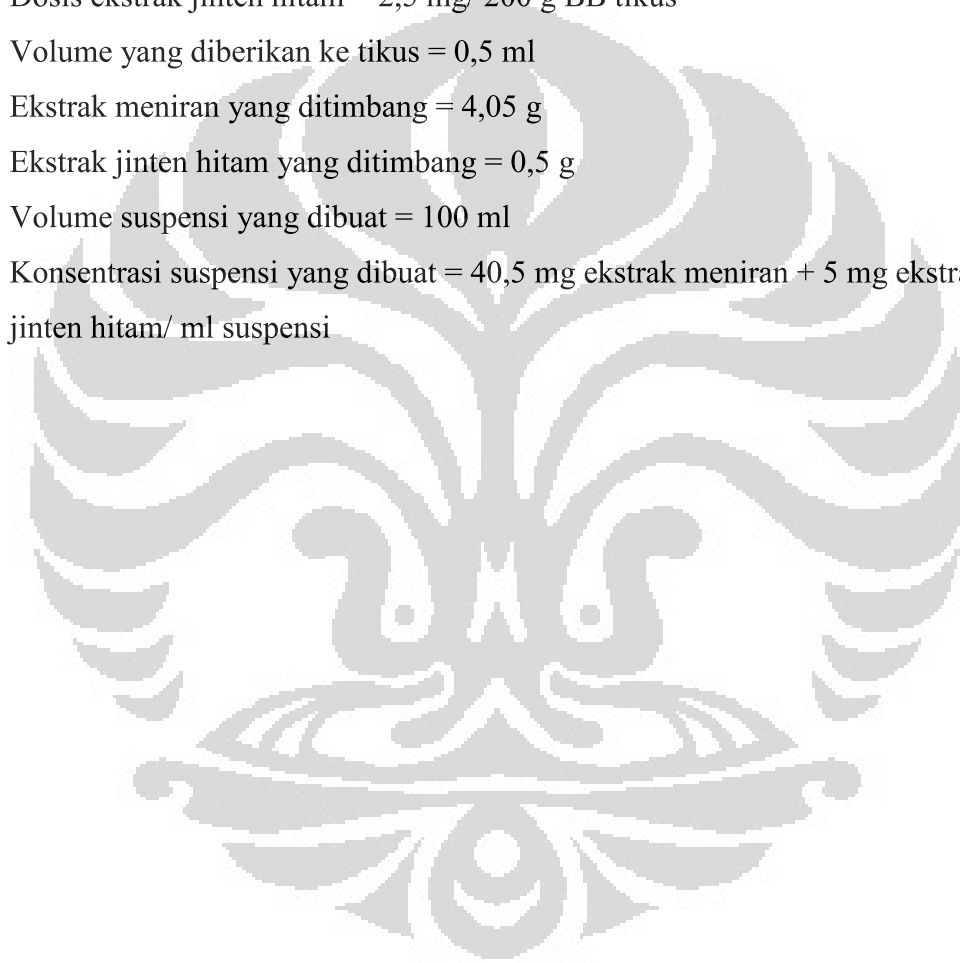
Volume yang diberikan ke tikus = 0,5 ml

Ekstrak meniran yang ditimbang = 4,05 g

Ekstrak jinten hitam yang ditimbang = 0,5 g

Volume suspensi yang dibuat = 100 ml

Konsentrasi suspensi yang dibuat = 40,5 mg ekstrak meniran + 5 mg ekstrak jinten hitam/ ml suspensi



Lampiran 3
Data Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Tikus 4 Jam Setelah
Pemberian Antigen

Kelompok	Δ tebal 4 jam (cm)	Rata-rata \pm Simpangan baku (cm)	Persentase (%)	Rata-rata \pm Simpangan baku (%)
Kontrol	0,025	0,026 \pm 0,005	6,10	6,48 \pm 1,56
	0,030		7,89	
	0,030		7,50	
	0,020		4,44	
Meniran	0,055	0,055 \pm 0,004	14,67	13,24 \pm 1,53
	0,050		11,36	
	0,060		14,28	
	0,055		12,64	
Jinten Hitam	0,065	0,060 \pm 0,009	15,29	13,97 \pm 2,49
	0,050		11,11	
	0,070		16,67	
	0,055		12,79	
Kombinasi 1	0,045	0,062 \pm 0,013	10,84	15,55 \pm 3,91
	0,060		13,95	
	0,075		19,48	
	0,070		17,95	
Kombinasi 2	0,110	0,105 \pm 0,011	28,21	23,36 \pm 8,36
	0,105		25,92	
	0,115		28,39	
	0,090		20,93	
Kombinasi 3	0,095	0,076 \pm 0,014	27,14	20,21 \pm 5,67
	0,065		16,05	
	0,080		22,53	
	0,065		15,12	

Lampiran 4
Data Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Tikus 24 Jam
Setelah Pemberian Antigen

Kelompok	Δ tebal 24 jam (cm)	Rata-rata \pm Simpangan Baku (cm)	Persentase (%)	Rata-rata \pm Simpangan Baku (%)
Kontrol	0	$0,005 \pm 0,004$	0	$1,23 \pm 1,02$
	0,005		1,31	
	0,010		2,50	
	0,005		1,11	
Meniran	0,005	$0,011 \pm 0,005$	1,33	$2,65 \pm 1,05$
	0,015		3,41	
	0,015		3,57	
	0,010		2,29	
Jinten Hitam	0,025	$0,014 \pm 0,008$	5,88	$3,21 \pm 2,00$
	0,015		3,41	
	0,010		3,57	
	0,005		2,29	
Kombinasi 1	0	$0,009 \pm 0,007$	0	$2,22 \pm 1,96$
	0,005		1,16	
	0,015		3,89	
	0,015		3,85	
Kombinasi 2	0,030	$0,026 \pm 0,007$	7,69	$6,48 \pm 1,99$
	0,020		4,93	
	0,035		8,64	
	0,020		4,65	
Kombinasi 3	0,020	$0,021 \pm 0,005$	5,71	$5,48 \pm 0,86$
	0,025		6,17	
	0,015		4,23	
	0,025		5,81	

Lampiran 3
Uji Statistik Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Seluruh
Kelompok Hewan Uji 4 Jam setelah Pemberian Antigen

1. Uji Normalitas (Uji Saphiro-Wilk) Terhadap Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Seluruh Kelompok Hewan Uji 4 Jam setelah Pemberian Antigen

Tujuan : Untuk melihat data perubahan tebal kaki kiri belakang seluruh kelompok hewan uji 4 jam setelah pemberian antigen terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis :

Ho = Data persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang tikus terdistribusi normal

Ha = Data persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang tikus tidak terdistribusi normal

$\alpha : 0,05$

Pengambilan kesimpulan :

Ho diterima jika nilai signifikansi $\geq 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $\leq 0,05$

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
persen4 Kontrol	.242	4	.	.924	4	.562
Meniran	.252	4	.	.924	4	.562
Jinten hitam	.203	4	.	.965	4	.810
Kombinasi 1	.230	4	.	.949	4	.710
Kombinasi 2	.257	4	.	.837	4	.188
Kombinasi 3	.268	4	.	.903	4	.444

a. Lilliefors Significance Correction

Nilai signifikansi $\geq \alpha$

Kesimpulan : Data persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang tikus terdistribusi normal

2. Uji Homogenitas Terhadap Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Seluruh Kelompok Hewan Uji 4 Jam setelah Pemberian Antigen

Tujuan : Untuk melihat data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang seluruh kelompok hewan uji 4 jam setelah pemberian antigen bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis :

Ho = Data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang tikus bervariasi secara homogen

Ha = Data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang tikus tidak bervariasi secara homogen

$\alpha : 0,05$

Pengambilan kesimpulan :

Ho diterima jika nilai signifikansi $\geq 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $\leq 0,05$

Test of Homogeneity of Variances

persen4

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.602	5	18	.020

nilai signifikansi $\leq 0,05$

Kesimpulan : Data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang tikus tidak bervariasi secara homogen

3. Uji *Kruskal-Wallis* Terhadap Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Seluruh Kelompok Hewan Uji 4 Jam setelah Pemberian Antigen

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang antar kelompok hewan uji 4 jam setelah pemberian antigen

Hipotesis :

H_0 = Data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang tikus tidak berbeda secara bermakna

H_a = Data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang tikus berbeda secara bermakna

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

H_0 diterima jika nilai signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $\leq 0,05$

Test Statistics(a,b)

	persen4
Chi-Square	17.690
df	5
Asymp. Sig.	.003

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: kelompok

nilai signifikansi $\leq 0,05$

kesimpulan : Persentase perubahan tebal kaki kiri belakang tikus berbeda secara bermakna

4. Uji *Mann-Whitney* Terhadap Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Seluruh Kelompok Hewan Uji 4 Jam setelah Pemberian Antigen

Kelompok Kontrol dan Meniran

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok Kontrol dan Jinten Hitam

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok Kontrol dan Kombinasi I

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok Kontrol dan Kombinasi II

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok Kontrol dan Kombinasi III

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok Meniran dan Jinten Hitam

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.577
Asymp. Sig. (2-tailed)	.564
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok Meniran dan Kombinasi I

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.577
Asymp. Sig. (2-tailed)	.564
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok Meniran dan Kombinasi II

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok Meniran dan Kombinasi III

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok Jinten Hitam dan Kombinasi I

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.577
Asymp. Sig. (2-tailed)	.564
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok Jinten dan Kombinasi II

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok Jinten dan Kombinasi III

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.443
Asymp. Sig. (2-tailed)	.149
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok Kombinasi I dan II

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok Kombinasi I dan III

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.155
Asymp. Sig. (2-tailed)	.248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok Kombinasi II dan III

Test Statistics^b

	persen4
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.443
Asymp. Sig. (2-tailed)	.149
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Lampiran 4
Uji Statistik Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Seluruh
Kelompok Hewan Uji 24 Jam setelah Pemberian Antigen

1. Uji Normalitas (Uji Saphiro-Wilk) Terhadap Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Seluruh Kelompok Hewan Uji 24 Jam setelah Pemberian Antigen

Tujuan : Untuk melihat data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang seluruh kelompok hewan uji sebelum perlakuan terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis :

Ho = Data Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang tikus terdistribusi normal

Ha = Data Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang tikus tidak terdistribusi normal

$\alpha : 0,05$

Pengambilan kesimpulan :

Ho diterima jika nilai signifikansi $\geq 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $\leq 0,05$

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
persen24	Kontrol	.219	4	.975	4	.871
	Meniran	.266	4	.904	4	.449
	Jinten hitam	.307	4	.913	4	.499
	Kombinasi 1	.297	4	.847	4	.217
	Kombinasi 2	.282	4	.863	4	.269
	Kombinasi 3	.356	4	.828	4	.163

a. Lilliefors Significance Correction

Nilai signifikansi $\geq 0,05$

Kesimpulan : Data Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang tikus terdistribusi normal

2. Uji Homogenitas Terhadap Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Seluruh Kelompok Hewan Uji 24 Jam setelah Pemberian Antigen

Tujuan : Untuk melihat data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang seluruh kelompok hewan uji 24 jam setelah pemberian antigen bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis :

H_0 = Data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang tikus bervariasi secara homogen

H_a = Data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang tikus tidak bervariasi secara homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan :

H_0 diterima jika nilai signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $\leq 0,05$

Test of Homogeneity of Variances

persen24

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.669	5	18	.057

nilai signifikansi $\geq 0,05$

Kesimpulan : Data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang tikus bervariasi secara homogen

3. Uji ANOVA Terhadap Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Seluruh Kelompok Hewan Uji 24 Jam setelah Pemberian Antigen

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang antar kelompok hewan uji 24 jam setelah pemberian antigen

Hipotesis :

Ho = Data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang tikus tidak berbeda secara bermakna

Ha = Data persentase perubahan tebal kaki kiri belakang tikus berbeda secara bermakna

$\alpha : 0,05$

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi $\geq 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $\leq 0,05$

ANOVA

persen24

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	80.997	5	16.199	7.509	.001
Within Groups	38.833	18	2.157		
Total	119.829	23			

nilai signifikansi $\leq 0,05$

kesimpulan : Persentase perubahan tebal kaki kiri belakang tikus berbeda secara bermakna

4. Uji Beda Nyata Terkecil Terhadap Persentase Perubahan Tebal Kaki Kiri Belakang Seluruh Kelompok Hewan Uji 24 Jam setelah Pemberian Antigen

Multiple Comparisons

Dependent Variable: persen24


LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Meniran	-1.42000	1.03860	.188	-3.6020	.7620
	Jinten hitam	-2.55750*	1.03860	.024	-4.7395	-.3755
	Kombinasi 1	-.99500	1.03860	.351	-3.1770	1.1870
	Kombinasi 2	-5.24750*	1.03860	.000	-7.4295	-3.0655
	Kombinasi 3	-4.25000*	1.03860	.001	-6.4320	-2.0680
Meniran	Kontrol	1.42000	1.03860	.188	-.7620	3.6020
	Jinten hitam	-1.13750	1.03860	.288	-3.3195	1.0445
	Kombinasi 1	.42500	1.03860	.687	-1.7570	2.6070
	Kombinasi 2	-3.82750*	1.03860	.002	-6.0095	-1.6455
	Kombinasi 3	-2.83000*	1.03860	.014	-5.0120	-.6480
Jinten hitam	Kontrol	2.55750*	1.03860	.024	.3755	4.7395
	Meniran	1.13750	1.03860	.288	-1.0445	3.3195
	Kombinasi 1	1.56250	1.03860	.150	-.6195	3.7445
	Kombinasi 2	-2.69000*	1.03860	.018	-4.8720	-.5080
	Kombinasi 3	-1.69250	1.03860	.121	-3.8745	.4895
Kombinasi 1	Kontrol	.99500	1.03860	.351	-1.1870	3.1770
	Meniran	-.42500	1.03860	.687	-2.6070	1.7570
	Jinten hitam	-1.56250	1.03860	.150	-3.7445	.6195
	Kombinasi 2	-4.25250*	1.03860	.001	-6.4345	-2.0705
	Kombinasi 3	-3.25500*	1.03860	.006	-5.4370	-1.0730
Kombinasi 2	Kontrol	5.24750*	1.03860	.000	3.0655	7.4295
	Meniran	3.82750*	1.03860	.002	1.6455	6.0095
	Jinten hitam	2.69000*	1.03860	.018	.5080	4.8720
	Kombinasi 1	4.25250*	1.03860	.001	2.0705	6.4345
	Kombinasi 3	.99750	1.03860	.350	-1.1845	3.1795
Kombinasi 3	Kontrol	4.25000*	1.03860	.001	2.0680	6.4320
	Meniran	2.83000*	1.03860	.014	.6480	5.0120
	Jinten hitam	1.69250	1.03860	.121	-.4895	3.8745
	Kombinasi 1	3.25500*	1.03860	.006	1.0730	5.4370
	Kombinasi 2	-.99750	1.03860	.350	-3.1795	1.1845

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

Lampiran 7
Laporan Hasil Ekstrak dari BALITRO

LABORATORIUM BALAI PENELITIAN TANAMAN OBAT DAN AROMATIK				
Jln. Tentara Pelajar No.3 Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor 16111 Telp (0251)8321879 Fax.(0251)8327010 E-mail : balitro@telkom.net				
				DF 5.10.1.2.
LAPORAN HASIL UJI				
No. Adm.: 521/T/LAB/X/2010				
Kepada Yth. Nancy Raissa Universitas Indonesia				
Kondisi/Identifikasi Contoh : Simplisia				
Tanggal Penerimaan : 8 Oktober 2010				
Tanggal Pengujian : 14 Oktober 2010				
No.	Jenis Contoh	Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil Pengujian/Pemeriksaan (No. contoh/kode)	Metode Pengujian
1.	Herba Meniran	Ekstrak dengan Etanol -Rendemen (%)	7,08	Maserasi
2.	Biji Jinten Hitam	Ekstrak dengan Etanol -Rendemen (%)	10,74	Maserasi

Bogor, 15 Oktober 2010
Manajer Teknis,

Ma'mun, S.Si

- Laporan hasil uji berlaku selama 90 hari sejak diterbitkan. Surat menyurat agar mencantumkan nomor administrasi.
- Hasil pengujian di atas hanya berdasarkan contoh uji yang bersangkutan. Laporan ini dilarang diperbanyak kecuali atas persetujuan tertulis dari Laboratorium Pengujian Balitro.

Lembar Kedua : disimpan oleh Manajer Administrasi