

**UJI EFEK EKSTRAK ETANOL BATANG KINCA
(*Feronia elephantum* Corr.) TERHADAP
PERBANYAKAN LIMFOSIT DARAH
MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)**

**HASANUDDIN
H 511 01 004**



21-06-2007
fak. MIPA
1
Hadiah
LOST

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2006**

**UJI EFEK EKSTRAK ETANOL BATANG KINCA (*Feronia
elephantum* Corr.) TERHADAP PERBANYAKAN LIMFOSIT DARAH
MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**HASANUDDIN
H 511 01 004**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2006**

UJI EFEK EKSTRAK ETANOL BATANG KINCA (*Feronia elephantum*
Corr.) TERHADAP PERBANYAKAN LIMFOSIT DARAH
MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)

HASANUDDIN

H 511 01 004

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama



DR. rer-nat Marianti A. Manggau
Nip. 132 785 084

Pembimbing Pertama,



Usman, S.Si, M.Si.
Nip. 132 166 480

Pembimbing Kedua,



Mufidah, S.Si, M.Si.
Nip. 132 240 180

Pada Tanggal :

April 2007

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur penulis haturkan ke hadirat Allah Yang Maha Kuasa dan Maha Penyayang karena berkat izin-Nya jualah sehingga penulis berhasil menyelesaikan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin. Shalawat dan salam kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW, sebagai teladan bagi semua umat manusia..

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak hambatan yang dihadapi, namun dengan segala daya dan upaya serta bantuan yang tak terhitung dari berbagai pihak akhirnya skripsi ini dapat penulis selesaikan. Untuk itu dengan segala kerendahan dan ketulusan hati penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Dr. rer-nat. Marianti A. Manggau selaku Pembimbing Utama, Usmar S.Si, M.Si., selaku Pembimbing Pertama serta Ibu Mufidah, S.Si., M.Si., selaku Pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu selama ini untuk memberi petunjuk, membagi ilmu dan menyumbangkan pikiran serta tenaga dalam membimbing penulis selama melakukan penelitian hingga selesainya skripsi ini.

Pada kesempatan ini pula, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Bapak Dekan Fakultas MIPA dan Ibu Ketua Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin
2. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin
3. Bapak Drs. H. Fachruddin Tobo, Apt (Alm) selaku Penasehat Akademik
4. Rekan-rekan Angkatan 2001 yang tidak dapat disebutkan satu per satu atas kebersamannya selama ini
5. Teman- temanku Abi, Ulla, Idrus, Pa Mansur, Rudi, dan Tenri atas bantuannya selama ini

Rasa hormat yang sedalam-dalamnya penulis haturkan kepada Ibunda Daulang, Kakanda Haeriyah, Haeruddin, Hasbullah, Hamka, Hijriyah, dan Hamzah selalu mendoakan, membiayai dan memberikan dorongan dalam menempuh jenjang pendidikan. Rasa terima kasih juga kami ucapkan kepada Partai Keadilan Sejahtera sebagai wadah pembinaan agama dan organisasi kami selama ini.

Akhirnya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan baik tenaga maupun pikiran, penulis mendoakan semoga Allah SWT senantiasa memberkahinya. Semoga skripsi yang sederhana ini dapat bermanfaat bagi keilmuan farmasi pada khususnya dan masyarakat luas pada umumnya.

Makassar, Januari 2006

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji efek ekstrak etanol batang kinca (*Feronia elephantum* Corr.) terhadap perbanyakan limfosit darah mencit jantan (*Mus musculus*) dengan melihat kenaikan persentase limfosit dalam darah sebelum dan setelah perlakuan, dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang diberi levamisol sebagai kontrol positif. Perhitungan total limfosit diperoleh dengan cara mengalikan persentase limfosit yang diperoleh melalui metode hitung jenis leukosit dengan jumlah total leukosit yang diperoleh melalui hitung jumlah leukosit. Perhitungan jenis leukosit dilakukan dengan metode apusan darah dengan pewarnaan Giemsa, sedangkan perhitungan jumlah leukosit dilakukan dengan metode kamar hitung dengan menggunakan larutan pengencer Turk. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efek imunostimulator ekstrak etanol batang kinca melalui salah satu mekanisme kerja yaitu memacu proliferasi limfosit. Mencit dibagi kedalam 5 kelompok perlakuan, dimana tiap kelompok terdiri atas 3 ekor. Kelompok pertama sebagai kontrol negatif hanya diberi suspensi Natrium CMC 0,1% , kelompok kedua sebagai kontrol positif diberi suspensi levamisol , dan 3 kelompok lainnya diberi ekstrak etanol batang kinca dengan konsentrasi masing-masing 0,5 % , 0,75 % , dan 1,0% b/v dengan perlakuan selama lima hari berturut-turut. Berdasarkan hasil analisis statistika dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan analisis lanjutan dengan metode uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD) memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak etanol batang kinca (*Feronia elephantum* Corr.) dengan konsentrasi 0,75% b/v secara signifikan dapat memperbanyak jumlah limfosit darah.

ABSTRACT

A research about the effect of the ethanol extract of wood apple stems (*Feronia elephantum* Corr.) on the blood lymphocyt replication of male mice (*Mus musculus*) by check on lymphocyt percentage increasing in blood before and after administration, compared to treatment group that administrated by levamisol as positive control. Calculation of total lymphocyt got by multiply lymphocyt percentage which got by kinds counting to total leucocyt which got by total counting. The kinds counting is done by blood applying method by giemsa colored, while total counting is done by counting chamber method under weaking Turk solution. This research was aimed to define immunostimulator effect of the ethanol extract of wood apple stems under one of how to work by stimulate lymphocyt proliferation. The mice was divided in to 5 treatment groups where each group consisted of 3 mice. First group as negative control that was only administrated by suspension of Na-CMC 1 % b/v, second group as positive control administrated by suspension of levamisol, and three others were administrated by ethanol extract of wood apple stems with the concentration of each administration was 0,5%, 0,75%, and 1,0% b/v during five days. The result of the the statistical analysis with the Complete Random Device (CRD) method and than continued with the Duncan's Multiple Range Test (DMRT) method showed that administration of ethanol extract of wood apple stems (*Feronia elephantum* Corr.) on the concentration 0,75% b/v significantly increase total lymphocit of blood

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| LEMBAR PENGESAHAN..... | iii |
| UCAPAN TERIMA KASIH..... | iv |
| ABSTRAK..... | vi |
| ABSTRACT..... | vii |
| DAFTAR ISI..... | viii |
| DAFTAR TABEL..... | xi |
| DAFTAR GAMBAR..... | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xiii |
| BAB I. PENDAHULUAN..... | 1 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA..... | 4 |
| II.1 Uraian Tanaman Kinca (<i>Feronia elephantum</i> Corr.)..... | 4 |
| II.1.1 Sistematika..... | 4 |
| II.1.2 Nama Asing dan Daerah..... | 4 |
| II.1.3 Morfologi..... | 5 |
| II.1.4 Tempat tumbuh..... | 5 |
| II.1.5 Kandungan Kimia..... | 6 |
| II.1.6 Kegunaan..... | 6 |
| II.2 Uraian Sistem Pertahanan Tubuh..... | 7 |
| II.2.1 Imunitas..... | 7 |

| | |
|--|----|
| II.2.2 Respon Imun Nonspesifik..... | 8 |
| II.2.3 Respon Imun Spesifik..... | 9 |
| II.3 Leukosit | 9 |
| II.3.1 Pembentukan Leukosit | 10 |
| II.3.2 Jenis-Jenis Leukosit | 11 |
| II.4 Limfosit..... | 15 |
| II.4.1 Limfosit T | 16 |
| II.4.2 Limfosit B | 16 |
| II.5 Immunostimulasi | 17 |
| II.5.1 Agen-Agen Immunostimulasi | 18 |
| II.5.2 Mekanisme Kerja Immunostimulasi | 18 |
| II.5.3 Immunostimulator Pada Terapi Alternatif | 19 |
| II.5.4 Levamisol | 19 |
| II.6 Uji Immunokompetensi | 20 |
| II.6.1 Hitung Jumlah Leukosit | 20 |
| II.6.2 Hitung Jenis Leukosit..... | 21 |
| II.7 Ekstraksi | 23 |
| II.7.1 Defenisi Ekstrak..... | 23 |
| II.7.2 Defenisi Ekstraksi..... | 23 |
| II.7.3 Metode Maserasi..... | 24 |
| II.8 Natrium Carboxymethylcellulosa..... | 24 |
| II.9 Data Leukosit Mencit | 25 |

| | |
|---|----|
| BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN..... | 26 |
| III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan | 26 |
| III.2 Penyiapan Sampel Penelitian | 26 |
| III.2.1 Pengambilan Sampel | 26 |
| III.2.2 Pengolahan Sampel | 26 |
| III.2.3 Ekstraksi Sampel..... | 27 |
| III.3 Pembuatan Bahan Penelitian..... | 27 |
| III.3.1 Pembuatan larutan koloidal Na-CMC 1% b/v | 27 |
| III.3.2 Pembuatan suspensi levamisol 0,05 % b/v | 27 |
| III.3.3 Pembuatan suspensi ekstrak etanol batang kinca | 28 |
| III.4 Pemilihan, Penyiapan, dan Seleksi Hewan Uji | 28 |
| III.4.1 Pemilihan Hewan Uji | 28 |
| III.4.2 Penyiapan Hewan Uji | 28 |
| III.4.3 Seleksi Hewan Uji | 29 |
| III.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji | 29 |
| III.6 Perhitungan Total Limfosit Sirkulasi | 29 |
| III.6.1 Perhitungan Jumlah Leukosit Total | 30 |
| III.6.2 Perhitungan Jenis Leukosit | 30 |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 33 |
| BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN..... | 37 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 38 |
| LAMPIRAN | |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--|---------|
| 1. Nilai Normal Leukosit Manusia..... | 10 |
| 2. Hasil Perhitungan Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit Sebelum dan Setelah Perlakuan | 33 |
| 3. Data Ratio Perubahan Total Limfosit Sebelum dan Setelah Perlakuan..... | 42 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|---|---------|
| 1. Jenis-Jenis Leukosit Menurut Atlas Hematologi | 14 |
| 2. Histogram Rasio Perubahan Total Limfosit Setelah Perlakuan ... | 34 |
| 3. Foto Hasil Pengamatan Jenis Leukosit dengan Pulasan Giemsa (Perbesaran 100 x) | 48 |
| 4. Apusan Darah | 49 |
| 5. Apusan Darah yang Telah Dipulas dengan Giemsa | 49 |
| 6. Darah yang Telah Diencerkan dengan Turk | 49 |
| 7. Kamar Hitung dan Pipet Pengencer Darah | 50 |
| 8. Leukosit yang Diamati di Bawah Mikroskop dengan Kamar Hitung | 50 |
| 9. Foto Tanaman Kinca (<i>Feronia elephantum</i> Corr.) | 50 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|--|---------|
| 1. Skema Kerja..... | 41 |
| 2. Analisis Statistika Data Rasio Perubahan Limfosit Total Mencit Jantan pada Pemberian Ekstrak Etanol Batang Kinca (<i>Feronia elephantum</i> Corr.) Menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD) | 42 |
| 3. Perhitungan konversi dosis levamisol..... | 48 |
| 4. Foto-Foto Pelengkap Pelaksanaan Penelitian | 49 |

BAB I

PENDAHULUAN

Perkembangan terbaru dalam bidang farmakologi yang masih dalam tahap pengkajian dan perdebatan adalah dikembangkannya agen-agen yang memodulasi respons imun dan tidak menekannya. Dasar pemikiran yang mendasari penelitian ini adalah obat-obat tersebut dapat digunakan untuk meningkatkan daya respons imun pasien yang mengalami imunodefisiensi selektif atau imunodefisiensi umum. Penggunaan potensial obat ini ditujukan pada gangguan imunodefisiensi, penyakit infeksi kronis, dan kanker (1). Imunostimulasi yang juga disebut imunopotensiasi adalah cara memperbaiki fungsi sistem imun dengan menggunakan bahan yang merangsang sistem imun yaitu *Biological Response Modifiers* atau *BRM* (2).

Imunostimulan secara tak langsung berkhasiat mereaktivasi sistem imun yang rendah dengan meningkatkan respons imun nonspesifik. Antara lain perbanyakkan limfosit T4, sel NK dan makrofag distimulasi, juga pelepasan interferon dan interleukin (3). Banyak teknik telah digunakan untuk menguji kompetensi imunologis yang dapat digunakan untuk mendeteksi efek agen immunosupresan atau agen immunostimulan. Cara yang paling sederhana adalah perhitungan total jumlah limfosit yang beredar dalam sirkulasi (1).

Limfosit merupakan jenis leukosit dengan jumlah 20% dari semua jenis leukosit dalam sirkulasi darah orang dewasa. Leukosit ini merupakan

kunci pengontrol sistem imun yang terdiri dari sel T dan sel B (2). Pada orang-orang yang memiliki cacat genetik pada limfosit atau yang limfositnya rusak akibat radiasi atau bahan-bahan kimia, tidak dapat membentuk imunitas spesifik. Dan dalam beberapa hari setelah lahir, penderita seperti ini meninggal akibat infeksi bakteri yang fulminan kecuali bila diobati dengan tindakan yang hebat. Oleh karena itu, jelaslah bahwa limfosit sangat penting untuk menjaga kelangsungan hidup manusia (4). Fungsi sel T umumnya ialah membantu sel B dalam produksi antibodi, mengenal dan menghancurkan sel yang terinfeksi virus, mengaktifkan makrofag dalam fagositosis, dan mengontrol ambang dan kualitas sistem imun (2). Fungsi sel B terutama adalah memproduksi antibodi yang merupakan pertahanan terhadap infeksi ekstraseluler, virus dan bakteri serta menetralkan toksinnya (2).

Kinca (*Feronia elephantum* Corr.) adalah salah satu tanaman familia Rutaceae yang oleh masyarakat Bima dimanfaatkan untuk pengobatan berbagai penyakit infeksi dan tumor. Di India, buah kinca telah dimanfaatkan sebagai obat batuk, asma dan masalah tenggorokan, diare dan disentri, tonik jantung dan liver, tumor, keputihan serta mengobati gigitan ular dan serangga (5). Pengobatan tumor dan infeksi membutuhkan senyawa bersifat toksik terhadap mikroba dan sel tumor atau dengan meningkatkan imunitas tubuh. Uji aktivitas anti mikroba dan sitotoksik telah dilakukan secara invitro dan diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol daun dan batang Kinca bersifat

antimikroba dan sitotoksik (6,7). Namun penelitian mengenai pengaruhnya terhadap imunitas tubuh belum dilaporkan.

Berdasarkan hal tersebut maka akan dilakukan penelitian dengan maksud mengetahui efek ekstrak etanol batang kinca terhadap perbanyakan limfosit pada mencit jantan (*Mus musculus*). Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan efek imunostimulator ekstrak etanol batang kinca melalui salah satu mekanisme kerja yaitu memacu proliferasi limfosit yang dilihat dari kenaikan persentase limfosit dalam darah sebelum dan setelah perlakuan, dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang diberi levamisol sebagai kontrol positif. Perhitungan total limfosit diperoleh dengan cara mengalikan persentase limfosit yang diperoleh melalui metode hitung jenis leukosit dengan jumlah total leukosit yang diperoleh melalui hitung jumlah leukosit. Perhitungan jenis leukosit dilakukan dengan metode apusan darah dengan pewarnaan Giemsa, sedangkan perhitungan jumlah leukosit dilakukan dengan metode kamar hitung dengan menggunakan larutan pengencer Turk.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman Kinca (*Feronia elephantum* Corr.)

II.1.1 Klasifikasi Tanaman (11,12)

| | | |
|-------------|---|---|
| Kerajaan | : | Plantae |
| Divisi | : | Spermatophyta |
| Anak Divisi | : | Angiospermae |
| Kelas | : | Dicotyledonae |
| Anak kelas | : | Dialypetalae |
| bangsa | : | Rutales |
| Suku | : | Rutaceae |
| Marga | : | Feronia |
| Jenis | : | <i>Feronia elephantum</i> Correa |
| Varietas | : | <i>Feronia limonia</i> Swingle <i>Limonia acidissima</i> |

II.1.2 Nama Asing dan daerah (11,12,13)

| | | |
|-------------|---|----------------------------|
| Inggris | : | Elephant Apple, Wood Apple |
| India | : | Kaitha |
| Indonesia | : | Kinca |
| Jawa, Sunda | : | Kawista, Kawis |
| Bima | : | Kawi |
| Madura | : | Bila, Kabista, Karabista |

II.1.3 Morfologi Tanaman (12,13)

Pohon; tinggi 8-10 m. Poros daun gundul; anak daun 5 atau 7, kadang 3 atau 6, duduk, bulat telur terbalik memanjang, dengan pangkal runcing dan ujung tumpul atau melekok ke dalam, gundul, 1,5-4,5 cm panjangnya. Bunga dalam malai kecil atau tandan kuning kehijauan, sedikit atau banyak kemerahan, diameter 1,2 – 1,4 cm. Tangkai sari panjang akhirnya 6-7 mm, pada pangkalnya berambut panjang. Buah bentuk bola, diameter 5-9 cm, berkulit tebal, musim buahnya sekitar bulan Maret sampai Desember, tumbuh liar terutama di pantai; ke arah pedalaman kerap kali ditanam. Buah berwarna keabu-abuan-putih dengan tebal kulit buah sekitar ¼ inci (6 mm). Daging buah berwarna coklat bila sudah matang, bertepung, harum, mengandung damar, asam sepat, atau agak manis dengan beberapa biji-biji kecil berwarna putih tersebar pada daging buah.

II.1.4 Tempat Tumbuh (12,13)

Tumbuh secara liar di daerah yang kering, terutama di pantai. Terdapat di India, Ceylon, Srilanka, Asia Tenggara, Malaya dan pulau Pinang.

II.1.5 Kandungan Kimia (13)

Biji buah mengandung minyak yang terdiri atas asam lemak tak jenuh. Buah yang belum masak mengandung 0,015 % stigmasterol dan 3-5% pektin (16% dari berat kering).

Daun mengandung 0,012% stigmasterol, 0,01% bergapten dan metil kavikol. Akar mengandung bergapten, serta kulit kayu mengandung asam ursonik dan glikosida flavonoid.

II.1.6 Kegunaan

Menurut Ayurveda, buah kaitha rasanya asam, berbau tajam (khas), bersifat refrigeren (mendinginkan), aprodisia, mengobati disentri, penyakit jantung, mual, muntah, kelelahan, asma, tumor, leucorrhoea (keputihan). Bijinya digunakan sebagai antidotum (5).

Berdasarkan pengalaman masyarakat India, kulit buah digunakan sebagai penawar racun dari gigitan dan sengatan serangga berbisa, dengan adanya kaitha juga membantu dalam penurunan populasi tikus (5).

Jus daun muda yang dicampur dengan susu dan gula digunakan untuk mengobati gangguan usus dan empedu. Serbuk gumnya yang dicampur dengan madu digunakan untuk mengobati disentri dan diare pada anak-anak. Minyak yang didapat dari perasan daun digunakan untuk gatal-gatal dan

dekokta daun digunakan pada nak untuk memperbaiki pencernaan. Daun, kulit kayu, akar dan daging buah semuanya digunakan untuk mengobati gigitan ular. Batang berduri yang didekokta digunakan untuk mengatasi menorrhagia (13).

II.2 Uraian Sistem Pertahanan tubuh

II.2.1 Imunitas

Imunitas adalah resistensi terhadap penyakit terutama penyakit infeksi. Gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi disebut sistem imun dan reaksi yang dikoordinasi sel-sel dan molekul- molekul terhadap mikroba dan bahan lainnya disebut respon imun (2). Kita ketahui bahwa tubuh kita secara kontinyu terpapar oleh mikroorganisme tetapi jarang menimbulkan penyakit, akan tetapi banyak cara mikroorganisme pada perkembangannya dapat mencegah dekstruksi oleh inang yang kemudian menyebabkan penyakit. Sistem imun selalu tersedia dan siap berinteraksi dengan bahan penginfeksi. Sistem imun dirancang untuk melindungi tubuh dari serangan lima kelas organisme penginfeksi, yaitu virus, bakteri, jamur, protozoa, dan cacing. Pada perkembangan selanjutnya diketahui sistem imun juga berperan dalam melawan sel tumor (14).

Pertahanan imun terdiri atas sistem imun alamiah atau nonspesifik (*natural/innate/native*) dan didapat atau spesifik (*adaptive/acquired*). Respon imun nonspesifik umumnya merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*) dalam arti bahwa respons terhadap zat asing dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar oleh zat tersebut, sedangkan respon imun spesifik merupakan respon didapat (*acquired*) yang timbul terhadap antigen tertentu. Perbedaan utama antara kedua jenis respon imun itu adalah dalam hal spesifitas dan pembentukan memori terhadap antigen tertentu pada respon imun spesifik yang tidak terdapat pada respon imun nonspesifik (15).

II.2.2 Respon Imun nonspesifik

Mekanisme fisiologik imunitas nonspesifik berupa komponen normal tubuh yang selalu ditemukan pada individu sehat dan siap mencegah mikroba masuk ke dalam tubuh dan dengan cepat menyingkirkan mikroba tersebut. Disebut nonspesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroba tertentu, telah ada dan siap berfungsi sejak lahir. Mekanismenya tidak menunjukkan spesifitas terhadap bahan asing dan mampu melindungi tubuh terhadap banyak patogen (2).

Pertahanan imun terdiri atas sistem imun alamiah atau nonspesifik (*natural/innate/native*) dan didapat atau spesifik (*adaptive/acquired*). Respon imun nonspesifik umumnya merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*) dalam arti bahwa respons terhadap zat asing dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar oleh zat tersebut, sedangkan respon imun spesifik merupakan respon didapat (*acquired*) yang timbul terhadap antigen tertentu. Perbedaan utama antara kedua jenis respon imun itu adalah dalam hal spesifitas dan pembentukan memori terhadap antigen tertentu pada respon imun spesifik yang tidak terdapat pada respon imun nonspesifik (15).

II.2.2 Respon Imun nonspesifik

Mekanisme fisiologik imunitas nonspesifik berupa komponen normal tubuh yang selalu ditemukan pada individu sehat dan siap mencegah mikroba masuk ke dalam tubuh dan dengan cepat menyingkirkan mikroba tersebut. Disebut nonspesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroba tertentu, telah ada dan siap berfungsi sejak lahir. Mekanismenya tidak menunjukkan spesifitas terhadap bahan asing dan mampu melindungi tubuh terhadap banyak patogen (2).

Komponen-komponen sistem imun nonspesifik terdiri atas : (2)

1. Pertahanan fisik/mekanik
2. Pertahanan biokimia.
3. Pertahanan humoral
4. Pertahanan selular

II.2.3 Respon imun Spesifik (2, 15)

Sistem imun spesifik mempunyai kemampuan mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Benda atau senyawa asing yang pertama kali muncul dalam tubuh segera dikenal oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitasi sel-sel sistem imun tersebut. Senyawa asing yang sama bila terpapar ulang akan dikenal lebih cepat, kemudian dihancurkan. Sistem imun spesifik terdiri dari humoral (limfosit B) yang berfungsi dalam membentuk antibodi dan seluler (limfosit T) yang berfungsi untuk pertahanan bakteri yang hidup intraseluler, jamur, virus dan parasit.

II.3 Leukosit

Tubuh kita mempunyai suatu sistem khusus untuk memberantas macam-macam bahan penginfeksi dan toksik. Sistem ini terdiri atas leukosit darah (sel darah putih) dan sel-sel jaringan yang berasal dari leukosit. Leukosit merupakan unit yang *mobil/ aktif* dari sistem pertahanan tubuh. Leukosit ini sebagian dibentuk di sumsum tulang (*granulosit* dan *monosit* serta sedikit *limfosit*) dan sebagian lagi di

jaringan limfe (*limfosit dan sel-sel plasma*). Setelah dibentuk , sel-sel ini diangkut ke darah menuju berbagai bagian tubuh untuk digunakan. Manfaat sesungguhnya dari sel darah putih ialah bahwa kebanyakan ditranspor secara khusus ke daerah yang terinfeksi dan mengalami peradangan serius, jadi menyediakan pertahanan yang cepat dan kuat terhadap setiap bahan yang infeksius yang mungkin ada (4).

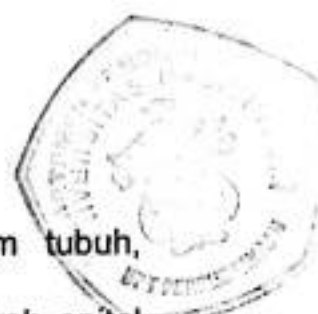
Tabel 1. Nilai Normal Leukosit Manusia (16)

| Dewasa | Hitung Darah | Anak | Leukosit Total |
|----------------|---------------------------------------|--------------|---------------------------------------|
| Leukosit Total | 4,00 – 11,0 x 10 ⁹ / liter | Neonatus | 10,0 – 25,0 x 10 ⁹ / liter |
| Netrofil | | 1 tahun | 6,0 – 18,0 x 10 ⁹ / liter |
| Eosinofil | 2,5 – 7,5 x 10 ⁹ / liter | 4 – 7 tahun | 6,0 – 15,0 x 10 ⁹ / liter |
| Monosit | 0,04 – 0,4 x 10 ⁹ / liter | 8 – 12 tahun | 4,5 – 13,5 x 10 ⁹ / liter |
| Basofil | 0,2 – 0,8 x 10 ⁹ / liter | | |
| Limfosit | 0,01-0,1 x 10 ⁹ / liter | | |
| | 1,5 – 3,5 x 10 ⁹ / liter | | |

II.3.1 Pembentukan Leukosit (4)

Diferensiasi dini dari sel stem hemopoietik pluripoten menjadi berbagai tipe sel stem *committed* untuk membentuk sel darah merah, dan dua silsilah utama dari sel darah putih yaitu mielositik dan limfositik .

Granulosit dan monosit hanya ditemukan pada sumsum tulang. Limfosit dan sel plasma terutama diproduksi dalam berbagai organ limfogen, termasuk kelenjar limfe, limpa, timus, tonsil, dan



berbagai kantor jaringan limfoid di mana saja dalam tubuh, terutama dalam sumsum tulang dan Plak Peyer di bawah epitel dinding usus. Dalam keadaan normal, granulosit yang bersirkulasi dalam seluruh darah kira-kira tiga kali jumlah yang disimpan dalam sumsm. Jumlah ini sesuai dengan persediaan granulasit selama 6 hari. Limfosit sebagian besar disimpan dalam berbagai area jaringan limfoid, kecuali pada sedikit limfosit yang secara temporer diangkut dalam darah.

II.3.2 Jenis-Jenis Leukosit (17,18)

Ada lima jenis leukosit dalam sirkulasi darah, yang dibedakan berdasarkan ukuran, bentuk nukleus, dan ada tidaknya granula sitoplasma. Sel yang memiliki granula sitoplasma disebut granulosit, sedang sel tanpa granula disebut agranulosit.

1. Granulosit terbagi menjadi netrofil, eosinofil, dan basofil, berdasarkan warna granula sitoplasmanya saat dilakukan pewarnaan dengan zat warna darah Wright (Gambar 1).

- a. **Netrofil** mencapai 60 % dari jumlah sel darah putih.
 - **Struktur.** Netrofil memiliki granula kecil berwarna merah muda dalam sitoplasmanya. Nukleusnya memiliki tiga sampai lima lobus yang terhubung dengan benang kromatin tipis. Diameternya mencapai 9 μm sampai 12 μm .

- **Fungsi.** Netrofil sangat fagositik dan sangat aktif. Sel-sel ini sampai di jaringan terinfeksi untuk menyerang dan menghancurkan bakteri, virus, atau agen penyebab cedera lainnya.

b. **Eosinofil** mencapai 1 sampai 3 % jumlah sel darah putih.

- **Struktur.** Eosinofil memiliki granula sitoplasma yang kasar dan besar, dengan pewarnaan orange kemerahan. Sel ini memiliki nucleus berlobus dua, dan berdiameter 12 μm sampai 15 μm .

- **Fungsi**

i) Eosinofil adalah fagositik lemah. Jumlahnya akan meningkat saat terjadi asma, alergi, dan serangan parasit metazoa usus, tetapi akan berkurang selama stress berkepanjangan,

ii) Sel ini berfungsi dalam detoksikasi histamine yang diproduksi sel mast dan jaringan yang cedera saat inflamasi berlangsung.

iii) Eosinofil mengandung peroksidase dan fosfatase, yaitu enzim yang mampu menguraikan protein. Enzi ini mungkin terlibat dalam detoksifikasi bakteri dan pemindahan kompleks antigen-antibodi, tetapi fungsi pastinya belum diketahui.

c. **Basofil** mencapai kurang dari 1 % jumlah leukosit.

- **Struktur.** Basofil memiliki sejumlah granula sitoplasma besar yang bentuknya tidak beraturan yang akan berwarna keunguan sampai hitam serta memperlihatkan nucleus berbentuk S, diameternya sekitar 12 μm sampai 15 μm .

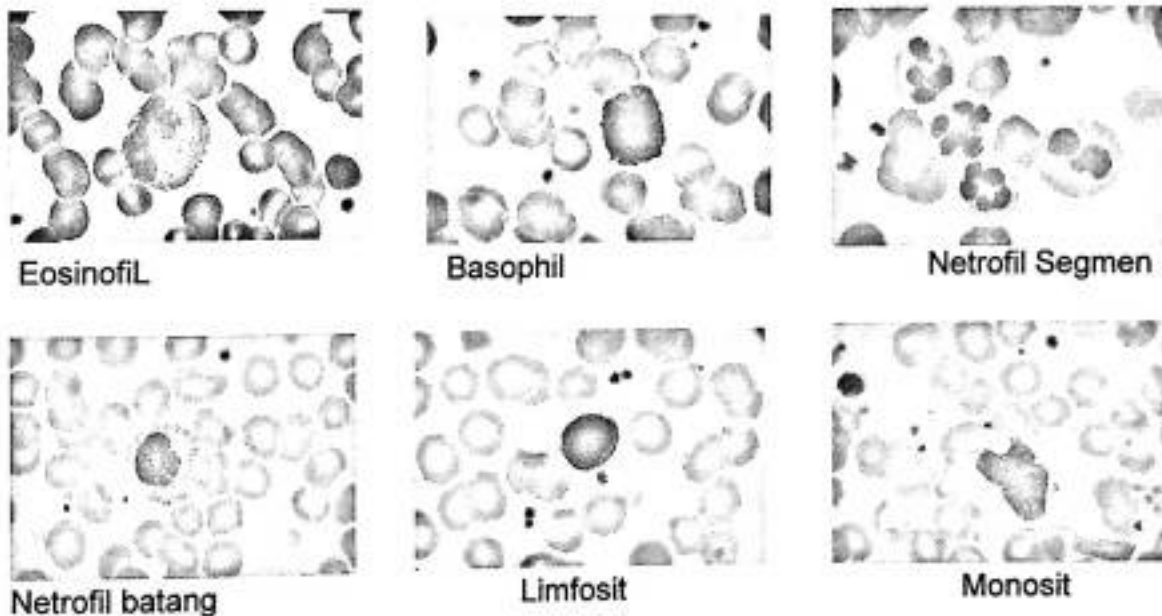
- **Fungsi** basofil menyerupai fungsi sel mast. Sel ini mengandung histamine, mungkin untuk meningkatkan aliran darah ke jaringan yang cedera, dan juga antikoagulan heparin yang membantu mencegah penggumpalan darah intravaskuler. Fungsi sebenarnya belum diketahui.

2. **Agranulosit** adalah leukosit tanpa granula sitoplasma, yaitu **limfosit** dan **monosit**.

a. **Limfosit** mencapai 30% jumlah total leukosit dalam darah. Sebagian besar limfosit dalam tubuh ditemukan dalam jaringan limfatik. Rentang hidupnya dapat mencapai beberapa tahun.

- **Struktur.** Limfosit mengandung nucleus bulat berwarna biru gelap yang dikelilingi lapisan tipis sitoplasma. Ukurannya bervariasi; ukuran terkecil 5 μm sampai 8 μm ; ukuran terbesar 15 μm .

- **Fungsi.** Sel ini berfungsi sebagai sel pertahanan imun spesifik.
- a. **Monosit** mencapai 3 sampai 8% jumlah total leukosit.
- **Struktur.** Monosit adalah sel darah terbesar, diameternya rata-rata berukuran 12 μm sampai 18 μm . Nukleusnya besar, berbentuk seperti telur atau ginjal, yang dikelilingi stoplasma berwarna biru keabuan pucat.
 - **Fungsi.** Monosit sangat fagositik dan sangat aktif. Sel ini siap bermigrasi melalui pembuluh darah. Jika monosit telah meninggalkan aliran darah, maka sel ini menjadi **histiosit jaringan** (makrofag tetap).



Gambar 1 . Jenis-jenis leukosit yang terlihat dengan pulasan Wright menurut Atlas Hematologi (25)

II.4 Limfosit

Limfosit yang merupakan 20 % dari semua leukosit dalam sirkulasi darah orang dewasa terdiri dari sel T dan sel B, merupakan kunci pengontrol sistem imun. Sel-sel tersebut dapat mengenal benda asing dan membedakannya dari sel jaringan sendiri. Biasanya sel limfosit hanya memberikan reaksi terhadap benda asing, tetapi tidak terhadap sel sendiri. Kemampuan mengenal limfosit itu disebabkan oleh adanya reseptor pada permukaan sel (TCR) (2).

Pada orang-orang yang memiliki cacat genetik pada limfosit atau yang limfositnya rusak akibat radiasi atau bahan-bahan kimia, tidak dapat membentuk imunitas spesifik. Dan dalam beberapa hari setelah lahir, penderita seperti ini meninggal akibat infeksi bakteri yang fulminan kecuali bila diobati dengan tindakan yang hebat. Oleh karena itu, jelaslah bahwa limfosit sangat penting untuk menjaga kelangsungan hidup manusia (4).

Limfosit terletak tersebar dalam nodus limfe, namun dapat juga dijumpai pada jaringan limfoid khusus, seperti limpa, daerah submukosa dari traktus intestinal, dan sumsum tulang. Jaringan limfoid tersebar secara sangat menguntungkan di dalam tubuh guna menahan invasi organisme atau toksin sebelum dapat menyebar luas. Pada kebanyakan kasus, mula-mula agen masuk ke dalam cairan jaringan dan kemudian dibawa melalui pembuluh limfe ke nodus limfe atau jaringan limfoid lain (4).

II.4.1 Limfosit T

Limfosit T setelah pembentukannya di sumsum tulang, mula-mula bermigrasi ke kelenjar timus, kemudian diolah dan berproliferasi secara cepat membentuk berbagai tipe sel limfosit T. Kemudian keluar menyebar ke seluruh jaringan limfoid. Limfosit T disebut imunitas diperantai sel (4).

Fungsi sel T umumnya membantu sel B dalam produksi antibodi, mengenal dan menghancurkan sel yang terinfeksi virus, mengaktifkan makrofag dalam fagositosis, serta mengontrol ambang dan kualitas sistem imun (2).

Sel T terdiri dari empat tipe sel pada perkembangannya. Sel Th (*T helper*) yang berperan menolong sel B dalam differensiasi dan membentuk antibodi. Sel Ts (*T supressor*) yang berperan menekan aktivitas sel T yang lain dan sel B. Sel Tdth (*T Delayed type hypersensitivity*) yang berperan pada pengerahan makrofag dan sel inflamasi lainnya ke tempat terjadinya reaksi hipersensitivitas tipe lambat. Sel Tc (*cytotoxic*) atau CTL yang berfungsi mengeliminasi sel yang terinfeksi virus, sel ganas dan sel histoinkompatibel seperti penolakan pada transplantasi (2).

II.4.2 Limfosit B

Limfosit B mula-mula diolah lebih dulu di dalam hati selama pertengahan kehidupan janin, dan di sumsum tulang selama akhir

janin dan setelah lahir, kemudian bermigrasi ke jaringan limfoid seluruh tubuh dengan daerah yang lebih kecil dari limfosit T (4).

Limfosit B merupakan penghasil antibodi (imunoglobulin) yang memberikan imunitas humoral. Ada lima kelas dari imunoglobulin manusia yang diketahui yaitu IgG, IgM, IgA, IgD dan IgE. IgG adalah imunoglobulin major, itu ditunjukkan dengan jumlahnya yang besar dan tersusun dari globulin γ . IgG adalah satu-satunya imunoglobulin yang dapat melewati plasenta. IgM sebuah makroglobulin yang memiliki berat molekul terbesar dibandingkan kelas imunoglobulin yang lain. IgM merupakan tipe imunoglobulin yang paling banyak dan seringkali tidak eksklusif, disekresi selama respon primer antibodi. IgA adalah imunoglobulin yang banyak ditemukan dalam cairan sekret oleh karena itu sering disebut sebagai imunoglobulin sekretoris. IgD adalah imunoglobulin yang ditemukan dalam jumlah sangat sedikit. Peran biologiknya sebagai antibodi dalam reaksi hipersensitifitas terhadap penisilin (19).

II.5 Imunostimulasi

Imunostimulan atau imunopotensiasi adalah bahan yang memodulasi respons imun dan tidak menekannya. Secara klinik, bahan ini sangat efektif untuk mencegah dan mengobati infeksi. Juga telah berhasil menangani kanker, sehingga hal ini menyebabkan imunostimulan

menjadi bahan utama dalam penelitian klinik. Imunostimulan juga diperlukan untuk meningkatkan daya respons imun pasien yang mengalami imunodefisiensi selektif atau imunodefisiensi umum. Perhatian mengenai imunostimulator diakibatkan oleh menyebarnya *acquired immunodeficiency syndrome* (AIDS) (20).

II.5.1 Agen-Agen Imunostimulasi

Bahan-bahan yang dapat merangsang sistem imun disebut *Biological Response Modifier (BRM)*. Saat ini telah dikembangkan bahan biologik dan bahan sintetik. Bahan-bahan biologi berupa hormon timus, limfokin, interferon, antibodi monoklonal, ekstrak leukosit (*transfer factor*), LAK cells, bahan asal bakteri dan jamur. Bahan-bahan sintetik yang telah digunakan yaitu levamisol, isoprinosin, muramil dipeptida (MDP), serta bahan-bahan yang masih dalam uji klinik antara lain azimexon, ciamexon, bestatin, tuftsin (2).

II.5.2 Mekanisme Kerja Imunostimulasi

Imunostimulan secara tak langsung berkhasiat mereaktivasi sistem imun yang rendah dengan meningkatkan respons imun nonspesifik. Antara lain perbanyakkan limfosit T4, sel NK dan makrofag distimulasi, juga pelepasan interferon dan interleukin. Sebagai efek akhir dari reaksi kompleks itu, zat asing dapat dikenali dan dimusnahkan. Pada sel-sel tumor, ekspresi antigen transplantasi

diperkuat olehnya, sehingga lebih mudah dikenali oleh TNF dan sel-sel sitotoksik (3).

II.5.3 Imunostimulator Pada Terapi Alternatif (3)

Terapi alternatif untuk menstimulasi ketahanan imun banyak menggunakan sediaan nabati Echinaceae, Ginseng, bawang putih, flavonoida (genistein, quercetin) dan ubiquinon. Echinacea adalah tumbuhan pertama yang dibuktikan secara ilmiah khasiat stimulasinya terhadap sistem imun. Penelitian dekade terakhir menghasilkan penemuan bahwa masih terdapat banyak tumbuhan lain yang mengandung zat-zat alamiah dengan sifat stimulan.

Banyak imunostimulator alamiah termasuk kelompok (iso)flavon, yang terdapat di kebanyakan sayur-mayur dan buah-buahan. Flavon penting adalah genistein (dalam kedele) dan quercetin dengan efek antitumor dan antioksidan kuat.

Zat-zat alamiah lain dengan khasiat imunostimulan adalah ubiquinon (co-enzym Q), thymus, akar ginseng dan bawang putih. Vitamin C juga berdaya imunostimulasi dengan jalan meningkatkan aktivitas dan perbanyakan limfo-T dan makrofag.

II.5.4 Levamisol (2)

Levamisol merupakan derivat tetramizol, obat cacing yang dapat meningkatkan proliferasi dan sitotoksisitas sel T serta mengembalikan anergi pada beberapa penderita dengan kanker

(imunostimulan non spesifik). Anergi ternyata berhubungan dengan prognosis. Levamisol dapat meningkatkan efek berbagai bahan seperti antigen, mitogen, limfokin dan faktor kemotaktik untuk merangsang limfosit, granulosit dan makrofag. Dosis yang diberikan ialah 2,5 mg/Kg berat badan secara oral untuk dua minggu berturut-turut setiap hari. Efek sampingnya ialah mual, muntah, urtikaria, dan agranulositosis.

II.6 Uji Immunokompetensi

Banyak teknik telah digunakan untuk menguji kompetensi imunologis yang dapat digunakan untuk mendeteksi efek agen immunosupresan atau agen immunostimulan. Cara yang paling sederhana adalah perhitungan total jumlah limfosit yang beredar dalam sirkulasi (1).

II.6.1 Hitung Jumlah Leukosit (9, 10)

Cara-cara menghitung sel darah secara manual dengan memakai pipet dan kamar hitung tetap menjadi upaya penting dalam laboratorium klinik. Ketiga jenis sel darah, leukosit, eritrosit dan trombosit dihitung jumlahnya per satuan volume darah dengan terlebih dahulu membuat pengenceran dari darah yang diperiksa.

Darah diencerkan dalam pipet leukosit (pipet Thoma), kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung. Larutan pengencer yang digunakan ialah larutan Turk yang mempunyai

susunan yaitu : larutan gentianviolet 1 % dalam air 1 ml, asam aetat glasial 1 ml; aquadest ad 100 ml, yang disaring sebelum digunakan. Gentanviolet berfungsi sebagai pewarna sedangkan asam aetat berfungsi untuk melarutkan eritrosit-eritrosit sehingga yang tampak hanya eritrosit. Jenis kamar hitung yang biasa digunakan adalah Improved Neubauer, Original Neubauer, Burker, dan Turk. Masing-masing jenis kamar hitung ini berbeda dalam hal pembagian kotak tempat perhitungan leukosit.

Jumlah leukosit dihitung dalam volume tertentu; dengan menggunakan faktor konversi jumlah leukosit per μl darah dapat diperhitungkan. Pengenceran yang terjadi di dalam pipet ialah 20 kali. Jumlah semua sel yang dihitung dalam keempat bidang itu dibagi 4 menunjukkan jumlah leukosit dalam 0,1 μl . Kalikan angka itu dengan 10 (untuk tinggi) dan 20 (untuk pengenceran) untuk mendapat jumlah leukosit dalam 1 μl darah. Singkatnya jumlah sel yang dihitung kali 50 = jumlah leukosit per μl darah.

II.6.2 Hitung Jenis Leukosit (9,10)

Metode apusan darah merupakan metode yang umum dipakai untuk penaksiran jumlah dan pengamatan morfologi eritrosit, perhitungan differential (hitung jenis) pengamatan morfologis leukosit, serta pekasiran jumlah dan pengamatan morfologi trombosit.

Kebanyakan cara memulas sediaan darah menggunakan prinsip Romanowsky. Yang banyak dipakai ialah pulasan menurut Wright, menurut Giemsa dan pulasan aduan May-Grunwald dan Giemsa.

Pulasan Wright terdiri atas eosin dan methylen blue dengan pelarut metanol. Pulasan ini baik untuk pengamatan darah yang berisi banyak sel-sel muda dan sediaan sumsum tulang karena struktur plasma dan inti lebih jelas. Pulasan Giemsa terdiri dari azur II-eosin 3,0 g; azur II 0,8 g; glycerin 250 ml; metilalkohol 250 ml. Pulasan Wright sama baiknya dengan pulasan Giemsa untuk darah yang tidak banyak kelainan morfologinya. Perbedaan : dengan pulasan Giemsa granula basofil tidak tampak karena granula itu akan larut. Selain itu, eritrosit-eritrosit lebih kelabu warnanya. Disamping itu pulasan Giemsa baik untuk mempelajari parasit-parasit darah. Namun, agar kedua kebaikan apusan ini dihendaki dapat dilakukan pulasan bersama-sama dalam satu sediaan.

Pulasan peroxidase digunakan untuk membedakan jenis leukosit, apabila menghadapi sel muda atau yang abnormal. Pulasan Sudan Black granula leukosit yang mengandung zat lemak. Pulasan PAS (periodic acid-schiff) berguna untuk mengamati jaringan limfosit yang mengandung glikogen. Dan

pulasan fosfatase alkalis digunakan untuk membedakan leukositosis oleh leukemia granulositik kronik dari leukositosis oleh sebab-sebab lain.

II.7 Ekstrak dan Ekstraksi

II.7.1 Definisi Ekstrak (21)

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung.

II.7.2 Definisi Ekstraksi (22, 23)

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan dan termasuk biota laut. Sel tanaman dan hewan berbeda terutama ketebalannya sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksi zat aktif yang berada dalam sel tersebut.

Umumnya, zat aktif yang terkandung dalam tanaman maupun hewan lebih larut dalam pelarut organik. Proses terekstraksinya zat aktif dalam tanaman adalah pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan terlarut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan pelarut organik diluar sel. Maka larutan terpekat akan berdifusi ke

luar sel, dan proses ini berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam sel dan di luar sel.

II.7.3 Metode Maserasi (22)

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari.

Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam larutan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, sitraks dan lain-lain.

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan.

II.8 Uraian Tentang Natrium Karboksimetilselulosa (21)

Natrium karboksimetilselulosa adalah garam polikarboksimetil eter selulosa, berupa serbuk atau butiran, putih atau putih kuning gading, tidak berbau atau hampir tidak berbau, higroskopik. Mudah terdispersi dalam air, membentuk suspensi koloidal, tidak larut dalam etanol (5%), dalam eter P dan dalam pelarut organik lain.



II.9 Data Hitung Leukosit Mencit (*Mus musculus*) (26)

| | |
|-----------------|--|
| Sel Darah Putih | 6 – 15 x 10 ³ / mm ³ |
| Netrofil | 10 – 40 % |
| Limfosit | 55 – 95 % |
| Eosinofil | 0 – 4 % |
| Monosit | 0,1 – 3,5 % |
| Basofil | 0 – 0,3 % |

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah bejana maserasi, gelas Erlenmeyer 50 ml (*Pyrex*), gelas kimia 100 ml (*Duran*), gelas objek, gelas pendorong, gelas penutup, gelas ukur 25 ml (*Pyrex*), gunting, kamar hitung (*improved neubauer*), labu tentukur 100,0 ml (*Pyrex*), mikropipet (*Milta*), mikroskop (*Nikon*), pipet skala 1 ml, pipet ukur 1 ml, rak tabung, tabung reaksi, timbangan analitik (*Dragon 303*), timbangan gram (*Ohaus*), dan timbangan hewan (*Denver*).

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel batang kinca, askamex® tablet, betadin®, dapar posfat (pH 6,4), etanol 70%, kapas, Na-CMC, larutan Turk, metanol absolut, pewarna Giemsa, dan air suling.

III.2 Penyiapan Sampel Penelitian

III.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel batang kinca diperoleh dari Kabupaten Bima, Nusa Tenggara Barat.

III.2.2 Pengolahan Sampel

Batang kinca dicuci bersih kemudian dipotong-potong kecil lalu dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Setelah kering diserbukkan dengan alat penyerbuk kayu.

III.2.3 Ekstraksi Sampel

Sampel yang telah diserbukkan ditimbang sebanyak 300 g kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi dan direndam selama 3 hari dengan menggunakan pelarut etanol 70% sambil sesekali diaduk. Wadah maserasi ditutup rapat, disimpan di tempat yang tidak terkena sinar matahari langsung. Setelah disaring, ditambahkan cairan penyari etanol yang baru dan dilakukan maserasi kembali. Maserasi dilakukan sampai pelarut tidak berwarna coklat lagi. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dikumpulkan, diuapkan dengan menggunakan rotavapor kemudian diangin-anginkan sampai diperoleh ekstrak etanol kental.

III.3 Pembuatan Bahan Penelitian

III.3.1 Pembuatan larutan koloidal Na-CMC 1% b/v (8)

Sebanyak 1 g Na-CMC dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam 50 ml air suling panas (suhu 70°) sambil diaduk dengan pengaduk elektrik hingga terbentuk larutan koloidal dan dicukupkan volumenya hingga 100 ml dengan air suling.

III.3.2 Pembuatan suspensi levamisol 0,0195 mg/ 100 ml

Suspensi levamisol dibuat dengan menggerus dan menimbang tablet Askamex[®] yang setara dengan 0,0195 mg levamisol kemudian dimasukkan ke dalam lumpang, ditambah

larutan koloidal Na-CMC 1% b/v dalam labu tentukur 100,0 ml hingga tanda.

III.3.3 Pembuatan suspensi ekstrak etanol batang kinca

Suspensi ekstrak etanol batang kinca dibuat dengan menambahkan larutan koloidal Na-CMC 1% b/v sebagai pembawa, dibuat dalam konsentrasi 0,5%, 0,75%, dan 1% b/v. Cara pembuatan konsentrasi 0,5 % b/v adalah dengan menimbang ekstrak sebanyak 0,5 g kemudian digerus dalam lumpang, lalu ditambahkan larutan Na-CMC 1,0 % b/v dalam labu tentukur 100,0 ml hingga tanda. Untuk membuat ekstrak dengan konsentrasi 0,75% b/v dan 1% b/v dilakukan dengan cara yang sama dengan menimbang ekstrak masing-masing sebanyak 0,5 g dan 1 g. Suspensi ekstrak dibuat segar setiap kali perlakuan.

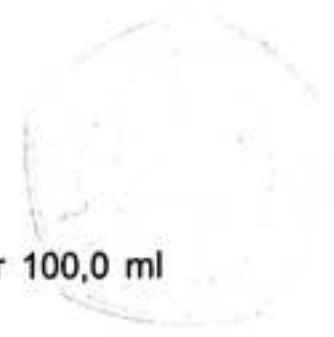
III.4 Pemilihan, Penyiapan, dan Seleksi Hewan Uji

III.4.1 Pemilihan Hewan Uji (24)

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) yang sudah dewasa, sehat dan aktivitas normal dengan bobot badan antara 25-30 gram.

III.4.2 Penyiapan Hewan Uji

Disiapkan mencit jantan sebanyak 15 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok masing-masing terdiri dari 3 ekor. Kelompok I adalah kontrol negatif yang diberi suspensi Na-CMC 1%, kelompok



larutan koloidal Na-CMC 1% b/v dalam labu tentukur 100,0 ml hingga tanda.

III.3.3 Pembuatan suspensi ekstrak etanol batang kinca

Suspensi ekstrak etanol batang kinca dibuat dengan menambahkan larutan koloidal Na-CMC 1% b/v sebagai pembawa, dibuat dalam konsentrasi 0,5%, 0,75%, dan 1% b/v. Cara pembuatan konsentrasi 0,5 % b/v adalah dengan menimbang ekstrak sebanyak 0,5 g kemudian digerus dalam lumpang, lalu ditambahkan larutan Na-CMC 1,0 % b/v dalam labu tentukur 100,0 ml hingga tanda. Untuk membuat ekstrak dengan konsentrasi 0,75% b/v dan 1% b/v dilakukan dengan cara yang sama dengan menimbang ekstrak masing-masing sebanyak 0,5 g dan 1 g. Suspensi ekstrak dibuat segar setiap kali perlakuan.

III.4 Pemilihan, Penyiapan, dan Seleksi Hewan Uji

III.4.1 Pemilihan Hewan Uji (24)

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) yang sudah dewasa, sehat dan aktivitas normal dengan bobot badan antara 25-30 gram.

III.4.2 Penyiapan Hewan Uji

Disiapkan mencit jantan sebanyak 15 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok masing-masing terdiri dari 3 ekor. Kelompok I adalah kontrol negatif yang diberi suspensi Na-CMC 1%, kelompok

II adalah kontrol positive yang diberi suspensi levamisol 0,0195 mg/ 100ml, Kelompok III, IV, dan V adalah kelompok perlakuan yang diberi ekstrak batang kinca masing-masing 0,5% b/v, 0,75% b/v, dan 1% b/v.

III.4.3 Seleksi Hewan Uji

Hewan uji diseleksi dengan memilih mencit yang memiliki jumlah leukosit normal ($6-15 \times 10^3/\text{mm}^3$) dan persentase limfosit normal(55-95 %) pada range batas bawah.

III.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Hewan uji yang telah diukur total limfosit awal dan diseleksi diberikan suspensi ekstrak etanol batang kinca per oral setiap hari selama 5 hari. Kelompok I adalah kontrol negatif yang diberikan suspensi Na-CMC 1 % b/v, Kelompok II adalah kontrol positif yang diberikan suspensi levamisol 0,0195 mg/100ml, Kelompok III, IV, dan V masing-masing diberikan suspensi ekstrak etanol batang kinca 0,5% b/v, 0,75% b/v, dan 1% b/v. Setelah 5 hari dilakukan pengukuran jumlah leukosit dan persentase limfosit akhir mencit yang telah diberi perlakuan melalui darah yang diambil melalui vena ekor (marginalis).

III.6 Perhitungan Total Limfosit Sirkulasi

Perhitungan total limfosit sirkulasi diperoleh dari hasil perkalian antara persentase limfosit yang didapat dari perhitungan jenis dengan jumlah leukosit.

III.6.1 Perhitungan Jumlah Leukosit Total (9)

Dipipet dan dimasukkan 0,38 ml larutan Turk ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 20 µl darah dan dicampur hingga homogen. Kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung dan dibiarkan selama 2-3 menit supaya leukosit mengendap. Lalu dihitung dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 x.

Jenis kamar hitung yang digunakan adalah Improved Neubauer, dimana leukosit dihitung dalam keempat bidang besar. Jangan menghitung leukosit yang menyentuh garis batas bidang bagian dalam. Jumlah leukosit per mm³ darah dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah Leukosit (per mm}^3\text{)} = \frac{\text{Jumlah sel yang dihitung} \times 20}{0,1 \times 4}$$

dimana : 20 = pengenceran

0,1 = tinggi kaca penutup

4 = jumlah bidang yang dihitung

III.6.2 Perhitungan Jenis Leukosit (10)

Dibuat apusan darah pada gelas objek dengan syarat-syarat yaitu : sediaan tidak melebar sampai pinggir kaca objek (panjangnya kira-kira 1/3-2/3 panjang kaca); lapisan darah harus cukup tipis sehingga eritrosit-eritrosit dan leukosit-leukosit jelas terpisah satu dengan yang lainnya; pinggir sediaan itu rata dan

sediaan tidak boleh berlubang-lubang atau bergaris-garis. Apusan kemudian difiksasi dengan metanol absolut 2-3 menit agar darah merekat dengan baik pada gelas objek. Kemudian apusan diwarnai dengan meliputi Giemsa yang telah diencerkan dengan buffer pH 6,4 (1 tetes Giemsa pokok untuk tiap 1 ml penyangga). Dibiarkan selama 20 menit kemudian dibilas dengan air suling dan dikeringkan.

Persentase jenis leukosit dibaca dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x dengan minyak imersi. Pada pembacaan leukosit eosinofil terlihat dengan inti bersegmen (2-3 lobi) dengan warna kebiru biruan, granula kasar terdapat dalam sitoplasma dengan warna orange kemerahan atau kekuning-kuningan. Netrofil terlihat dengan inti batang atau bersegmen (2-3 lobi) dengan warna biru keunguan, granula dalam sitoplasma tersebar halus berwarna ungu. Limfosit terlihat dengan inti bulat dan relatif besar hampir menutupi sitoplasma dengan warna biru gelap, tidak terdapat granula dalam sitoplasma. Monosit terlihat dengan bentuk sel lebih besar dengan inti berbentuk ginjal atau menyerupai otak dengan warna kemerah-merahan/ keunguan, jarang terdapat granula dalam sitoplasma (Lihat Gambar 1). Pada pulasan Giemsa granula basofil tidak nampak karena granula itu akan larut. Pembacaan dilakukan perlapangan pandang hingga

didapatkan 100 jumlah leukosit, kemudian jenis-jenisnya dipersentasekan. Pembacaan jangan dilakukan pada lapisan yang eritrositnya menumpuk.

III.7 Pengumpulan dan Analisa Data

Data dikumpulkan dari hasil perhitungan total limfosit sebelum dan setelah perlakuan kemudian dihitung pertambahan total limfositnya. Selanjutnya data yang diperoleh dianalisis secara statistika dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Uji Beda Jarak Nyata Duncan (UBJND).

didapatkan 100 jumlah leukosit, kemudian jenis-jenisnya dipersentasekan. Pembacaan jangan dilakukan pada lapisan yang eritrositnya menumpuk.

III.7 Pengumpulan dan Analisa Data

Data dikumpulkan dari hasil perhitungan total limfosit sebelum dan setelah perlakuan kemudian dihitung pertambahan total limfositnya. Selanjutnya data yang diperoleh dianalisis secara statistika dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Uji Beda Jarak Nyata Duncan (UBJND).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data hasil perhitungan jenis dan jumlah leukosit sebelum dan lima hari setelah perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2 berikut ini :

Tabel 2. Hasil Perhitungan Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit Sebelum dan Setelah Perlakuan

| Perlakuan | Kadar Leukosit Sebelum Perlakuan | | | | | | Kadar Leukosit Setelah Perlakuan | | | | | |
|--------------------|----------------------------------|------|------|-----|-------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|------|------|-----|-------------------------------------|------------------------------------|
| | Perhitungan Jenis (%) | | | | Jumlah Leukosit (/mm ³) | Total Limfosit (/mm ³) | Perhitungan Jenis (%) | | | | Jumlah Leukosit (/mm ³) | Total Limfosit (/mm ³) |
| | Eo | Ne | Li | Mo | | | Eo | Ne | Li | Mo | | |
| Kontrol (+) | | | | | | | | | | | | |
| Replikasi 1 | 2 | 30 | 58 | 10 | 9650 | 5597 | 0 | 14 | 83 | 3 | 9880 | 8200 |
| Replikasi 2 | 3 | 32 | 53 | 12 | 7700 | 4081 | 2 | 11 | 86 | 1 | 9556 | 8218 |
| Replikasi 3 | 4 | 24 | 61 | 11 | 7100 | 4331 | 1 | 10 | 84 | 5 | 10476 | 8800 |
| Rata-Rata | 3 | 28,7 | 57,3 | 11 | 8150 | 4670 | 1 | 11,7 | 84,3 | 3 | 9970 | 8406 |
| Kontrol (-) | | | | | | | | | | | | |
| Replikasi 1 | 2 | 38 | 55 | 5 | 5100 | 2805 | 3 | 55 | 33 | 9 | 11600 | 3630 |
| Replikasi 2 | 5 | 35 | 50 | 10 | 10900 | 5450 | 3 | 40 | 50 | 7 | 13550 | 6775 |
| Replikasi 3 | 3 | 43 | 50 | 4 | 14350 | 7175 | 2 | 30 | 60 | 8 | 10900 | 6540 |
| Rata-Rata | 3,7 | 44,3 | 44,3 | 7,7 | 12283,3 | 5143,3 | 2,3 | 36 | 55 | 6,7 | 9850 | 5648,3 |
| Kinca 0,5% | | | | | | | | | | | | |
| Replikasi 1 | 1 | 38 | 46 | 9 | 11300 | 5198 | 3 | 47 | 38 | 2 | 13300 | 5054 |
| Replikasi 2 | 6 | 36 | 50 | 8 | 10700 | 5350 | 4 | 25 | 62 | 9 | 12050 | 7471 |
| Replikasi 3 | 6 | 40 | 46 | 8 | 11300 | 5175 | 5 | 28 | 63 | 4 | 12950 | 8159 |
| Rata-Rata | 4,3 | 38 | 47,3 | 8,3 | 11100 | 5241 | 4 | 33,3 | 54,3 | 5 | 12766,7 | 6895 |
| Kinca 0,75% | | | | | | | | | | | | |
| Replikasi 1 | 5 | 31 | 54 | 10 | 6600 | 3564 | 8 | 32 | 55 | 5 | 11900 | 6545 |
| Replikasi 2 | 5 | 31 | 55 | 9 | 6550 | 3602 | 8 | 26 | 60 | 6 | 8400 | 5040 |
| Replikasi 3 | 7 | 33 | 51 | 9 | 6300 | 2835 | 3 | 52 | 36 | 9 | 16600 | 5976 |
| Rata-Rata | 5,7 | 31,7 | 53,3 | 9,3 | 6483 | 3333,7 | 6,3 | 36,7 | 50,3 | 6,7 | 12300 | 5853,7 |
| Kinca 1 % | | | | | | | | | | | | |
| Replikasi 1 | 0 | 41 | 55 | 4 | 12100 | 6655 | 3 | 26 | 62 | 9 | 13300 | 8246 |
| Replikasi 2 | 0 | 44 | 50 | 6 | 12850 | 6425 | 1 | 39 | 52 | 8 | 13600 | 7072 |
| Replikasi 3 | 1 | 37 | 55 | 7 | 11150 | 6132 | 0 | 39 | 55 | 6 | 15750 | 8663 |
| Rata-Rata | 0,3 | 40,7 | 53,3 | 5,7 | 12033 | 6404 | 1,3 | 34,7 | 56,3 | 7,7 | 14216,7 | 7993,7 |

Keterangan :

Eo = Eosinofil

Ne = Netrofil

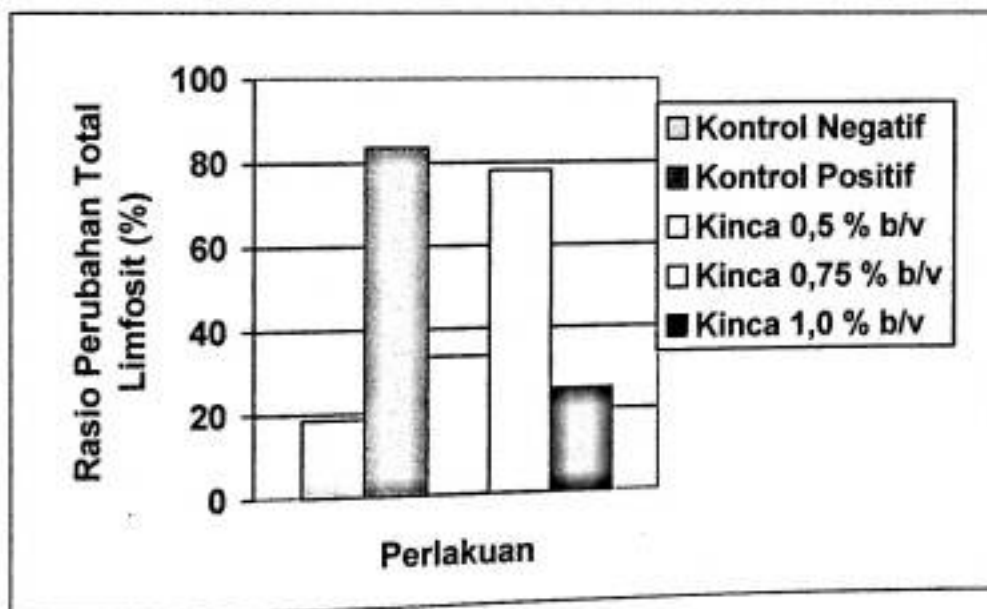
Li = Limfosit

Mo = Monosit

Total Limfosit = % Limfosit x Jumlah Leukosit

Perhitungan total limfosit diperoleh dengan metode hitung jenis dan jumlah leukosit. Perhitungan jenis leukosit dilakukan dengan metode apusan darah dengan pewarnaan Giemsa. Hasil pengamatan mikroskopik dapat dilihat pada Gambar 3. Perhitungan jumlah leukosit dilakukan dengan metode kamar hitung Improved Neubauer.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat dilihat efek pemberian ekstrak etanol batang kinca (*Feronia elephantum* Corr.) terhadap perbanyakan limfosit darah mencit jantan yang dibandingkan dengan kontrol positif yang diberikan suspensi levamisol dan kontrol negatif yang diberikan suspensi Na-CMC. Hal ini tampak jelas pada histogram berikut ini :

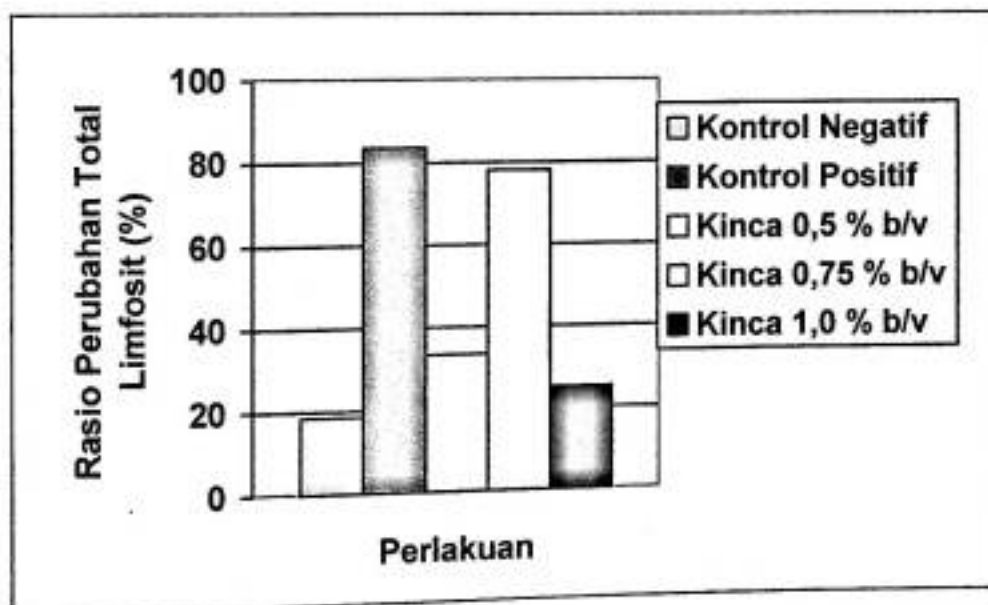


Gambar 2. Histogram Rasio Perubahan Total Limfosit Setelah Perlakuan

Berdasarkan rasio perubahan total limfosit (%) yang ditunjukkan pada histogram di atas, tampak adanya peningkatan jumlah limfosit pada

Perhitungan total limfosit diperoleh dengan metode hitung jenis dan jumlah leukosit. Perhitungan jenis leukosit dilakukan dengan metode apusan darah dengan pewarnaan Giemsa. Hasil pengamatan mikroskopik dapat dilihat pada Gambar 3. Perhitungan jumlah leukosit dilakukan dengan metode kamar hitung Improved Neubauer.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat dilihat efek pemberian ekstrak etanol batang kinca (*Feronia elephantum* Corr.) terhadap perbanyakannya limfosit darah mencit jantan yang dibandingkan dengan kontrol positif yang diberikan suspensi levamisol dan kontrol negatif yang diberikan suspensi Na-CMC. Hal ini tampak jelas pada histogram berikut ini :

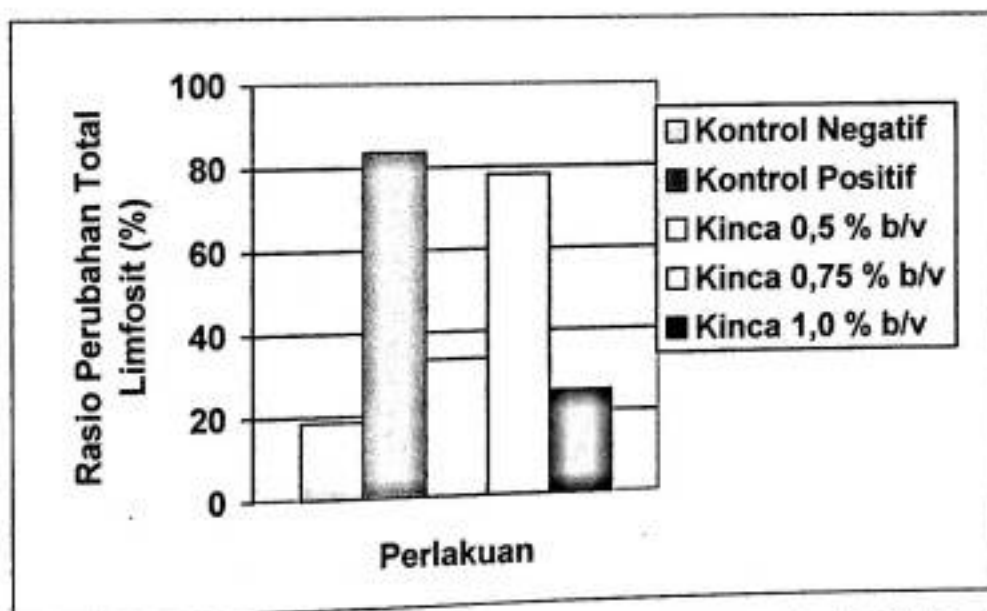


Gambar 2. Histogram Rasio Perubahan Total Limfosit Setelah Perlakuan

Berdasarkan rasio perubahan total limfosit (%) yang ditunjukkan pada histogram di atas, tampak adanya peningkatan jumlah limfosit pada

Perhitungan total limfosit diperoleh dengan metode hitung jenis dan jumlah leukosit. Perhitungan jenis leukosit dilakukan dengan metode apusan darah dengan pewarnaan Giemsa. Hasil pengamatan mikroskopik dapat dilihat pada Gambar 3. Perhitungan jumlah leukosit dilakukan dengan metode kamar hitung Improved Neubauer.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat dilihat efek pemberian ekstrak etanol batang kinca (*Feronia elephantum* Corr.) terhadap perbanyakannya limfosit darah mencit jantan yang dibandingkan dengan kontrol positif yang diberikan suspensi levamisol dan kontrol negatif yang diberikan suspensi Na-CMC. Hal ini tampak jelas pada histogram berikut ini :



Gambar 2. Histogram Rasio Perubahan Total Limfosit Setelah Perlakuan

Berdasarkan rasio perubahan total limfosit (%) yang ditunjukkan pada histogram di atas, tampak adanya peningkatan jumlah limfosit pada

semua kelompok perlakuan. Peningkatan jumlah limfosit pada kontrol positif dan ekstrak lebih besar dari kontrol negatif sehingga dapat dikatakan kontrol positif dan kelompok ekstrak meningkatkan jumlah limfosit. Pada kelompok kontrol positif rasio peningkatan total limfositnya sebesar 83,69 % sangat melebihi rasio peningkatan kontrol negatif yang hanya 18,63 %. Pada kontrol positif ini dapat dilihat peningkatan baik jumlah leukosit secara total maupun persentase limfositnya (Tabel 2). Pada kelompok ekstrak 0,5 % b/v juga terjadi peningkatan jumlah limfosit dengan rasio sebesar 33,36 % lebih besar dari kontrol negatif. Rasio peningkatan jumlah limfosit terbesar terjadi setelah pemberian ekstrak 0,75 % b/v yaitu sebesar 78,12 % (sedikit dibawah kontrol positif). Pada konsentrasi 1,0 % juga terjadi peningkatan total limfosit sedikit diatas kontrol negatif yaitu sebesar 25,09 %.

Berdasarkan analisis statistika dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Analisis Sidik Ragam (ASR) memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak etanol batang kinca memberikan efek yang nyata (signifikan) terhadap peningkatan jumlah limfosit, yang dapat dilihat dari nilai F hitung yang lebih besar dari F tabel 5% (Lampiran 2).

Analisis antar perlakuan terhadap data rasio pertambahan jumlah limfosit menggunakan uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD) antara kontrol negatif dan kelompok ekstrak etanol batang kinca pada konsentrasi 0,5 % dan 1,0 % b/v memperlihatkan perbedaan yang tidak nyata. Perbedaan yang nyata terjadi antara kontrol negatif dengan ekstrak etanol batang kinca 0,75

% b/v dan berbeda tidak nyata dengan kontrol positif. Hal ini berarti bahwa kemampuan ekstrak etanol batang kinca dalam memperbanyak limfosit pada konsentrasi 0,75 % hampir sama dengan kontrol positif (levamisol) pada dosis 0,0195 mg/ 100 ml.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data secara statistika, maka disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol batang kinca (*Feronia elephantum* Corr.) pada konsentrasi 0,75 % b/v secara signifikan dapat meningkatkan jumlah limfosit dengan rasio 78,12 % sehingga ekstrak etanol batang kinca bersifat imunostimulator.

VI.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji lanjutan untuk mengetahui jenis limfosit spesifik yang diperbanyak (limfosit T atau limfosit B).
2. Perlu dilakukan uji aktivitas limfosit (IgG dan IgM).

DAFTAR PUSTAKA

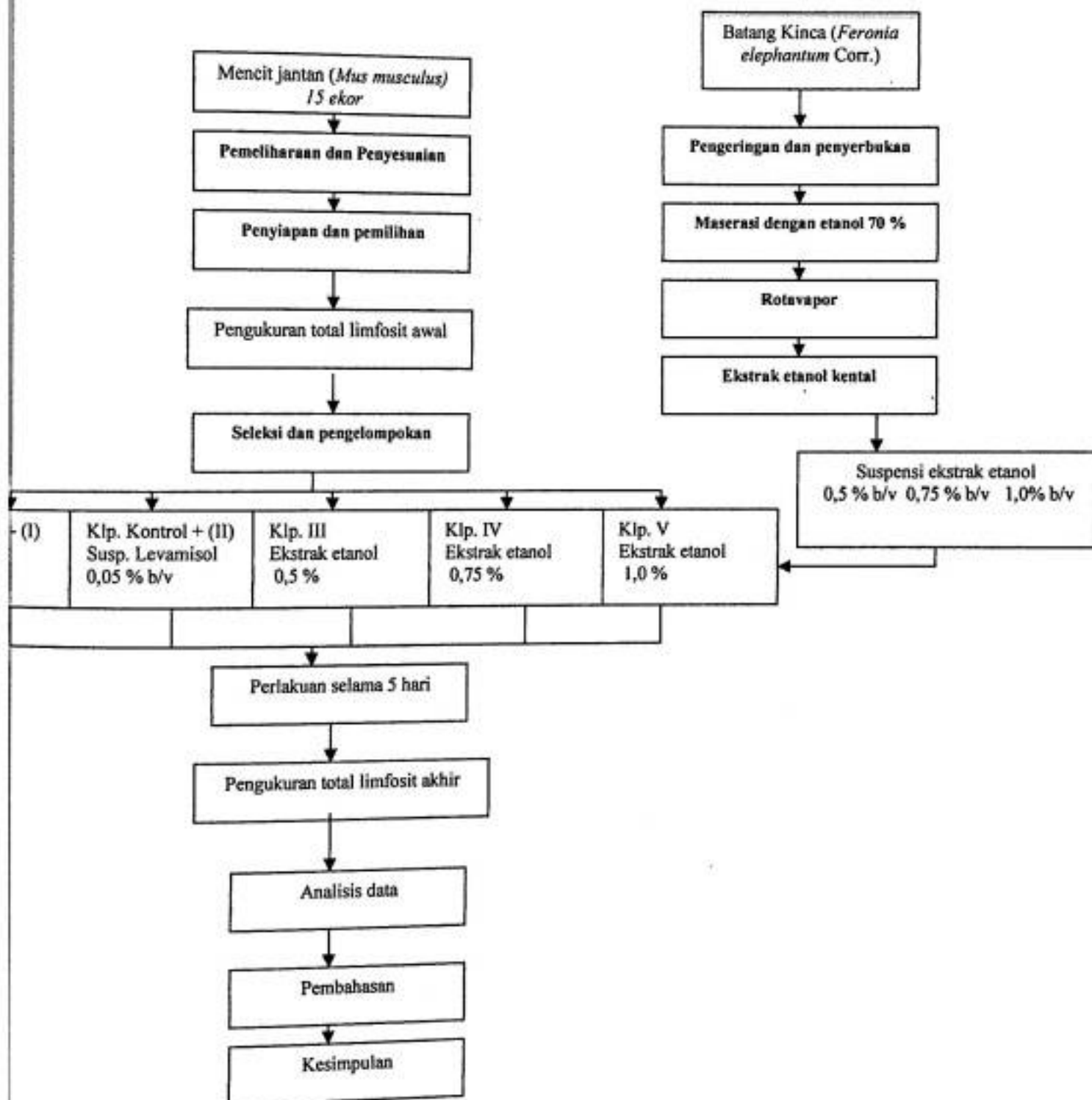
1. Katzung, B.G., 2004, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Edisi 8, penerjemah: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Salemba Medica, Jakarta, 368, 386
2. Bratawidjaja, K.G., 2002, *Imunologi Dasar*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 17, 74, 96
3. Tan, H.T., Rahardja, K., 2002, *Obat-Obat Penting*, Edisi 5, Elex Media Komputindo, Jakarta, 740
4. Guyton, A.C., Hall, J.E., 1997, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, penerjemah: Irawati Setiawan, LMA Ken Ariata, Alex Santoso, EGC, Jakarta, 556
5. Oundhia, P., 2003., *Medicinal Herbs of Chattisgarh, India Having Less Known Traditional Uses, XVII, Kaitha (Feronia elephantum, Family : Rutaceae)*. www.botanical.com. Diakses tanggal 26 januari 2006
6. Mufidah, Anisa, Sartini, Djide M.N, dan Alam ,G., 2004., Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Daun Kinca (*Feronia elephantum* CORR.) Terhadap Pertumbuhan Mikroba Dan Kematian Larva Udang *Artemia salina* Leach, *Majalah Obat Tradisional vol.9*, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. 9, 13
7. Suhartini, 2006, *Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Daun Kinca (Femia Elephantum Corr.) Terhadap Pertumbuhan Mikroba dan kematian Larva udang(Artemia salina Leach) dengan metode KLT-Bioautografi*, Skripsi :Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar.
8. Parrot, E.L., 1979, *Pharmaceutical Technology Fundamental Pharmaceutics*, Burgess Publishing Company, USA, 353
9. Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan, 1989, *Hematologi*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 31
10. Gandasoebrata, R., 2001, *Penuntun Laboratorium Klinik*, Dian Rakyat, Jakarta, 24,25

11. Tjiptosoepomo, G., 1996, *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 292
12. Steenis, C.G.G.J Van, 1987, *Flora*, Cetakan ke 4, PT Pradnya Paramita, Jakarta, 250
13. Morton, J., 2987, *Wood Apple. In: Fruits of warm Climets*, Miami, Florida, <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/wood-apple.html>. Diakses tanggal 20 Januari 2006
14. Staines, N., Brostoff, J., James, K., 1994, *Introduction Immunology*, Second Edition, Mosby, Toronto, London, 69
15. Kresno, S., 1996, *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, Edisi ketiga, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 4
16. Hoffbrand, A.V., Pettit, J.E., Moss, P, A, H., 2005, *Kapita Selekta Hematology*, Edisi 4, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 105
17. Sloane, E., 2004, *Anatomi dan Fisiologi Untuk Pemula*, Edisi 4, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 223-224,
18. Hol Borow, E.J., Reeves, W.G., 1983, *Immunology in Medicine*, Second Edition, Grune & Stratton, New York, 1983, 60, 68
19. Rose, N., Milgrom, F., Corel, J.D., 1973, *Principles of Immunology*, Maacmillan Publishing CO, New york, 12, 124, 136.
20. Stites, D.P., Stobo, J.D., Vivia, J.W., 1987, *Basic & Clinical Immunology*, Sixth Edition, Appleton & Lange, Norwalk, California, 229
21. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 9,378,401,602,645.
22. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, 1986., *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 11.
23. Gennaro, A.R., Chase G.D., Rippie, E.G., (eds.), 1990, *Remington's Pharmaceutical Science*, 18th Edition, Mack Publishing Company, Easton-Pensiylvania, 1047.

24. Medeiros, N., 2003., *Atlas of Hematology*. [www. hematology atlas.com](http://www.hematologyatlas.com). Diakses tanggal 23 april 2006.
25. Malole, M.B.M., Utami, S.P., 1989, *Penggunaan Hewan-Hewan Coba di Laboratorium*, Dirjen. Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Bioteknologi, IPB Bogor,24.

Lampiran 1

SKEMA KERJA



Lampiran 2. Analisis Statistika Data Rasio Perubahan Limfosit Total Mencit Jantan pada Pemberian Ekstrak Etanol Batang Kinca (*Feronia elephantum* Corr.) Menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD)

Tabel 3. Data Ratio Perubahan Total Limfosit Sebelum dan Setelah Perlakuan

| Perlakuan | Replika si | Limfosit Awal (K ₀) | Limfosit Akhir (K _s) | Ratio Perubahan ($\left \frac{K_s - K_0}{K_0} \right \times 100\%$) |
|--------------------|---------------|---------------------------------|----------------------------------|--|
| Kontrol Negatif | 1 | 2805 | 3630 | 22,73 |
| | 2 | 5450 | 6775 | 24,31 |
| | 3 | 7175 | 6540 | 8,85 |
| Rata-rata | | 5143,3 | 5648,3 | 18,63 |
| Kontrol Positif | 1 | 5597 | 8200 | 46,51 |
| | 2 | 4081 | 8218 | 101,37 |
| | 3 | 4331 | 8800 | 103,19 |
| Rata-rata | | 4670 | 8406 | 83,69 |
| Ekstrak 0,5% | 1 | 5198 | 5054 | 2,77 |
| | 2 | 5350 | 7471 | 39,64 |
| | 3 | 5175 | 8159 | 57,66 |
| Rata-rata | | 5241 | 6895 | 33,36 |
| Ekstrak 0,75% | 1 | 3564 | 6545 | 83,64 |
| | 2 | 3602 | 5040 | 39,92 |
| | 3 | 2835 | 5976 | 110,79 |
| Rata-rata | | 3333,7 | 5853,7 | 78,12 |
| Ekstrak 1,0% | 1 | 6655 | 8246 | 23,91 |
| | 2 | 6425 | 7072 | 10,07 |
| | 3 | 6132 | 8663 | 41,28 |
| Rata-rata | | 6404 | 7994 | 25,09 |

Keterangan :

Awal (K₀) : Total limfosit awal

Akhir (K_s) : Total limfosit akhir setelah perlakuan selama 5 hari

| Perlakuan | Hewan Uji | | | Jumlah | Rata-rata |
|-------------------------|-----------|--------|--------|--------|-----------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| Kontrol negatif | 22,73 | 24,31 | 8,85 | 55,89 | 18,63 |
| Kontrol Positif | 46,51 | 101,37 | 103,19 | 251,07 | 83,69 |
| Eks. Batang Kinca 0,5 % | 2,77 | 39,64 | 57,66 | 100,08 | 33,36 |
| Eks. Batang Kinca 0,75% | 83,64 | 39,92 | 110,79 | 234,36 | 78,12 |
| Eks. Batang Kinca 1,0% | 23,91 | 10,07 | 41,28 | 75,26 | 25,09 |
| Jumlah total | | | | 716,66 | 238,89 |

Analisis Sidik Ragam (ASR)

A. Sumber Keragaman

$$\text{Model : } Y = \mu + \sigma + \zeta$$

Dimana : Y = Total hasil percobaan

μ = Nilai rata-rata harapan

ζ = Pengaruh kesalahan/galat

Sumber Keragaman adalah :

1. Perlakuan (P)
2. Kesalahan/Galat (G)
3. Total Percobaan (T)

| Perlakuan | Hewan Uji | | | Jumlah | Rata-rata |
|-------------------------|-----------|--------|--------|--------|-----------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| Kontrol negatif | 22,73 | 24,31 | 8,85 | 55,89 | 18,63 |
| Kontrol Positif | 46,51 | 101,37 | 103,19 | 251,07 | 83,69 |
| Eks. Batang Kinca 0,5 % | 2,77 | 39,64 | 57,66 | 100,08 | 33,36 |
| Eks. Batang Kinca 0,75% | 83,64 | 39,92 | 110,79 | 234,36 | 78,12 |
| Eks. Batang Kinca 1,0% | 23,91 | 10,07 | 41,28 | 75,26 | 25,09 |
| Jumlah total | | | | 716,66 | 238,89 |

Analisis Sidik Ragam (ASR)

A. Sumber Keragaman

$$\text{Model : } Y = \mu + \sigma + \zeta$$

Dimana : Y = Total hasil percobaan

μ = Nilai rata-rata harapan

ζ = Pengaruh kesalahan/galat

Sumber Keragaman adalah :

1. Perlakuan (P)
2. Kesalahan/Galat (G)
3. Total Percobaan (T)

B. Perhitungan Derajat Bebas (Db)

$$1. DbT = (r.t) - 1 = (3.5) - 1 = 14$$

$$2. DbP = t - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$3. DbG = DbT - DbP = 14 - 4 = 10$$

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

$$FK = \frac{T_{ij}^2}{r.t} = \frac{716,66^2}{3.5} = \frac{513601,55}{15} = 34240,10$$

$$\begin{aligned} 1. JKT &= \sum(Y_{ij}^2) - FK \\ &= ((22,73)^2 + (24,31)^2 + \dots + (41,28)^2) - 34240,10 \\ &= 52417,7 - 34240,10 \\ &= 18177,6 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. JKP &= \frac{\sum P^2}{r} - FK \\ &= \frac{((55,89)^2 + (251,07)^2 + \dots + (75,26)^2)}{3} - 34240,10 \\ &= 45588,17 - 34240,10 \\ &= 11348,07 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. JKG &= JKT - JKP \\ &= 18177,6 - 11348,07 \\ &= 6829,53 \end{aligned}$$

C. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

$$1. KTP = \frac{JKP}{DbP} = \frac{11348,07}{4} = 2837,02$$

B. Perhitungan Derajat Bebas (Db)

$$1. DbT = (r.t) - 1 = (3.5) - 1 = 14$$

$$2. DbP = t - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$3. DbG = DbT - DbP = 14 - 4 = 10$$

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

$$FK = \frac{T_{ij}^2}{r.t} = \frac{716,66^2}{3.5} = \frac{513601,55}{15} = 34240,10$$

$$\begin{aligned} 1. JKT &= \sum(Y_{ij}^2) - FK \\ &= ((22,73)^2 + (24,31)^2 + \dots + (41,28)^2) - 34240,10 \\ &= 52417,7 - 34240,10 \\ &= 18177,6 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. JKP &= \frac{\sum P^2}{r} - FK \\ &= \frac{((55,89)^2 + (251,07)^2 + \dots + (75,26)^2)}{3} - 34240,10 \\ &= 45588,17 - 34240,10 \\ &= 11348,07 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. JKG &= JKT - JKP \\ &= 18177,6 - 11348,07 \\ &= 6829,53 \end{aligned}$$

C. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

$$1. KTP = \frac{JKP}{DbP} = \frac{11348,07}{4} = 2837,02$$

$$2. KTG = \frac{JKG}{DbG} = \frac{6829,53}{10} = 682,95$$

D. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$FhP = \frac{KTP}{KTG} = \frac{2837,02}{682,95} = 4,15$$

Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Ratio Perubahan Limfosit Total

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | Fh | Ft | |
|------------------|----|----------|---------|-------|------|------|
| | | | | | 5% | 1% |
| Perlakuan (P) | 4 | 11348,07 | 2837,02 | 4,15* | 3,48 | 5,99 |
| Galat (G) | 10 | 6829,53 | 682,95 | | | |
| Total (T) | 14 | 18177,6 | | | | |

Keterangan : (*) Berbeda nyata karena $F_h > F_t$ 5 %, H_0 ditolak, hipotesa (H_1) diterima, yaitu ada pengaruh pemberian ekstrak etanol batang kinca terhadap jumlah limfosit darah mencit.

$$\text{Nilai tengah } (y) = \frac{T_{ij}}{r1} = \frac{716,66}{3,5} = 47,78$$

$$\begin{aligned} \text{Koefisien Keragaman (KK)} &= \frac{\sqrt{KTG}}{y} \times 100\% \\ &= \frac{\sqrt{682,95}}{47,78} \times 100\% \\ &= 54,69\% \end{aligned}$$

Analisis Lanjutan dengan Uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD)

$$KTG = 682,95$$

$$SYi = \sqrt{\frac{KTG}{r}} = \sqrt{\frac{682,95}{3}} = 15,09$$

| α | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|
| JN _{5%} | 3,15 | 3,30 | 3,37 | 3,43 |
| JN _{1%} | 4,48 | 4,73 | 4,88 | 4,96 |
| JNT _{5%} | 47,53 | 49,79 | 50,85 | 51,76 |
| JNT _{1%} | 67,60 | 71,38 | 73,64 | 74,85 |

$$\begin{aligned} JNT_{5\%} &= JN_{5\%} \cdot SYi \\ &= 3,15 \cdot 15,09 = 47,53 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JNT_{1\%} &= JN_{1\%} \cdot SYi \\ &= 4,48 \cdot 15,09 = 67,60 \end{aligned}$$

| Perlakuan | A | B | C | D | E |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Rata-rata | 83,69 | 78,12 | 33,36 | 25,09 | 18,63 |

Keterangan : A = Kontrol positif

B = Diberi ekstrak batang kinca 0,75 %

C = Diberi ekstrak batang kinca 0,5 %

D = Diberi ekstrak batang kinca 1,0 %

E = Kontrol negatif

Perbandingan Antar Perlakuan

| Perlakuan | Selisih | JNT | | Keterangan |
|-----------|---------|----------|----------|------------|
| | | p = 0,05 | P = 0,01 | |
| A - B | 5,57 | 47,53 | 67,60 | NS |
| A - C | 50,33 | 49,79 | 71,38 | S |
| A - D | 58,60 | 50,85 | 73,64 | S |
| A - E | 65,06 | 51,76 | 74,85 | S |
| B - C | 44,76 | 47,53 | 67,60 | S |
| B - D | 53,03 | 49,79 | 71,38 | S |
| B - E | 59,49 | 50,85 | 73,64 | S |
| C - D | 8,27 | 47,53 | 67,60 | NS |
| C - E | 14,73 | 49,79 | 71,38 | NS |
| D - E | 6,46 | 47,53 | 67,60 | NS |

Lampiran 3.

Perhitungan Dosis Levamisol Ter

- Referensi : Levamisol 2,5 mg/ KgBB

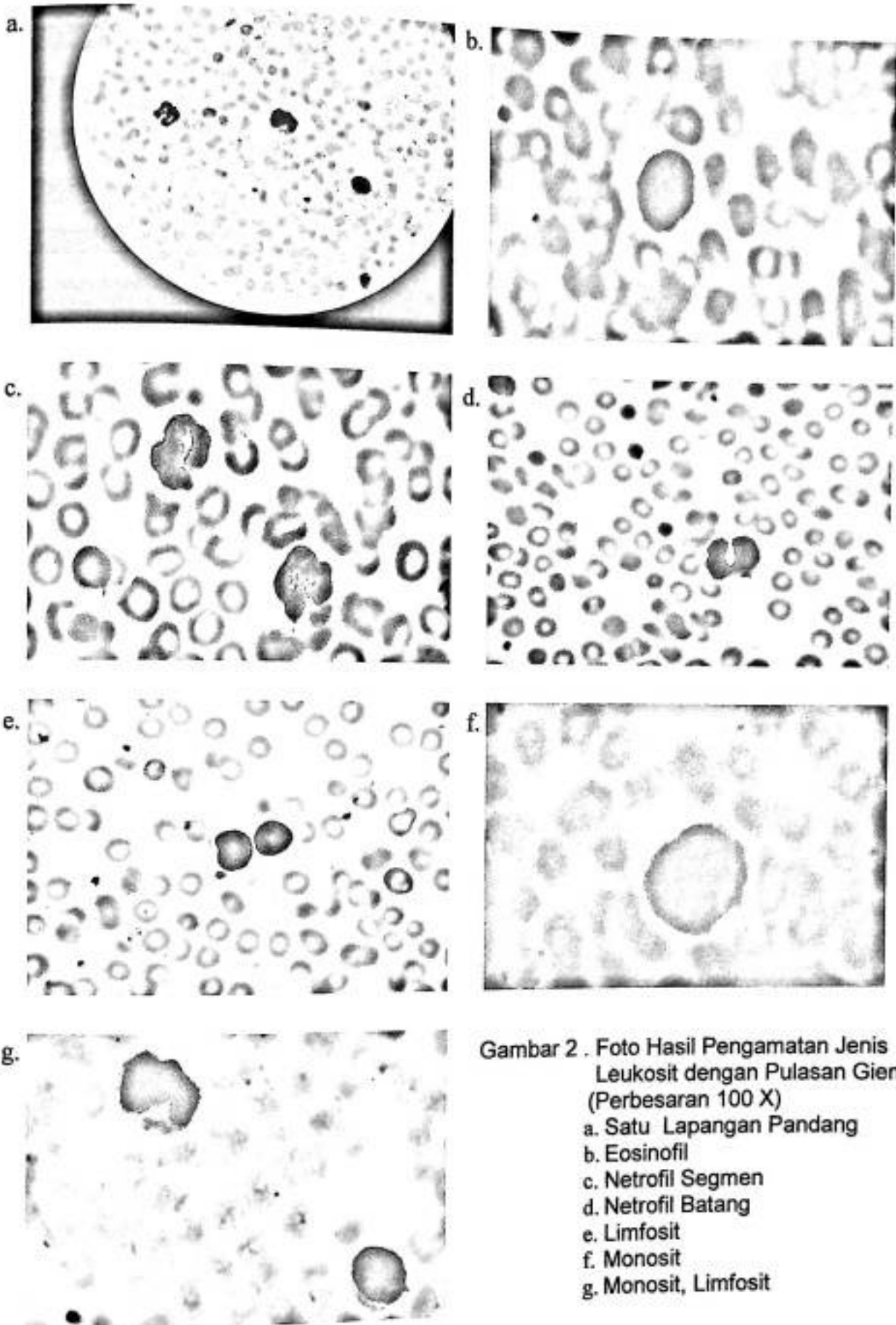
Konversi mencit $2,5 \times 0,0026 = 0,0065 \text{ mg/ } 1000\text{g}$

Mencit = 30 g $0,0065 \text{ mg/}1000 \text{ g} \times 30/30 \text{ g}$

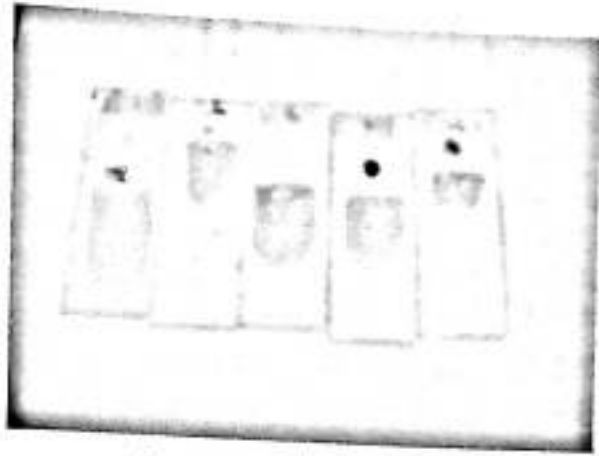
$= 0,000195 \text{ mg/ } 30 \text{ g mencit}$

- 0,000195 mg/ 1ml

- 0,0195 mg/ 100 ml



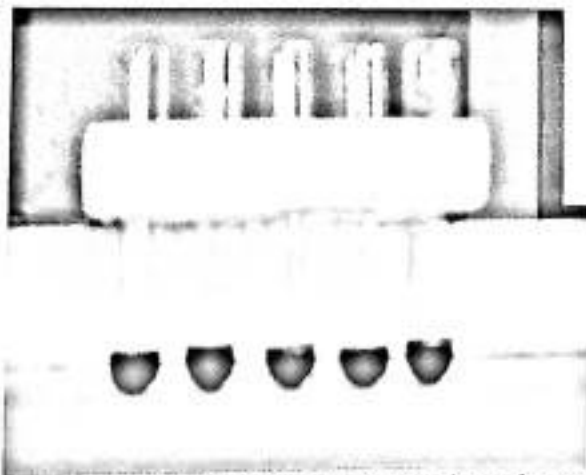
Gambar 2 . Foto Hasil Pengamatan Jenis Leukosit dengan Pulasan Giemsa (Perbesaran 100 X)
a. Satu Lapangan Pandang
b. Eosinofil
c. Netrofil Segmen
d. Netrofil Batang
e. Limfosit
f. Monosit
g. Monosit, Limfosit



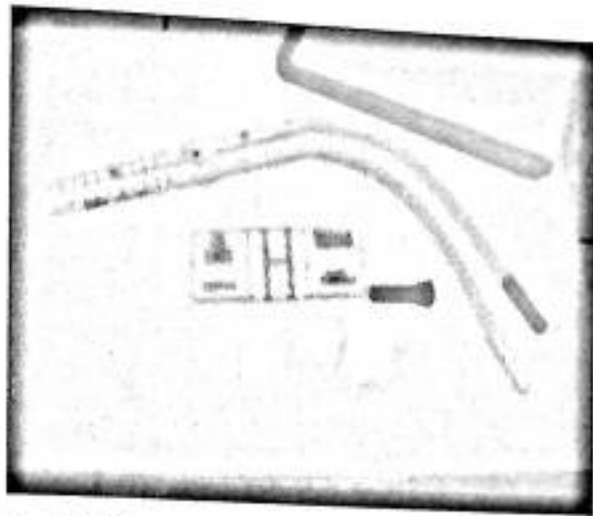
Gambar 4. Apusan Darah



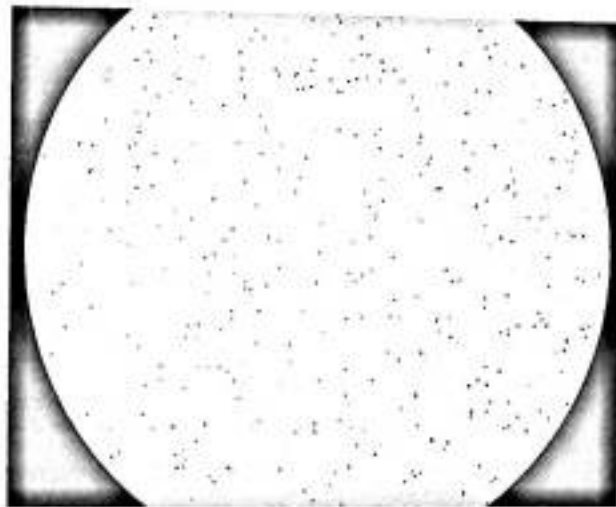
Gambar 5. Apusan Darah yang Telah Dipulas dengan Giemsa



Gambar 6. Darah yang telah Diencerkan dengan Turk



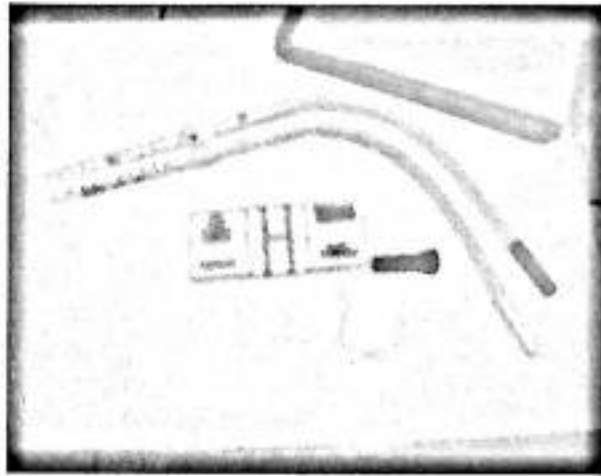
Gambar 7. Kamar Hitung dan Pipet Pengencer Darah



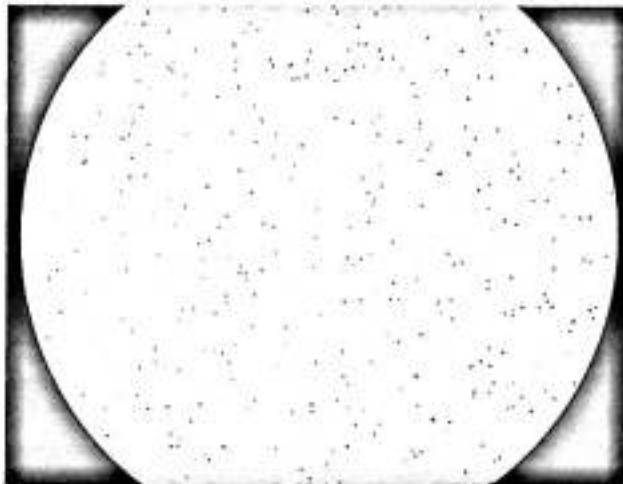
Gambar 8. Leukosit yang Diamati di Bawah mikroskop dengan Kamar Hitung



Gambar 9. Foto Tanaman Kinca (*Feronia elephantum* Corr.)



Gambar 7. Kamar Hitung dan Pipet Pengencer Darah



Gambar 8. Leukosit yang Diamati di Bawah mikroskop dengan Kamar Hitung



Gambar 9. Foto Tanaman Kinca (*Feronia elephantum* Corr.)