



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% BATANG
MENTIGI (*Vaccinium varingiaefolium*) TERHADAP JUMLAH
NEUTROFIL MENCIT YANG DIINDUKSI KARAGENIN**

SKRIPSI

Oleh

**Sri Anita Putri Ayu Wulandari
NIM 132210101080**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% BATANG
MENTIGI (*Vaccinium varingiaefolium*) TERHADAP JUMLAH
NEUTROFIL MENCIT YANG DIINDUKSI KARAGENIN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

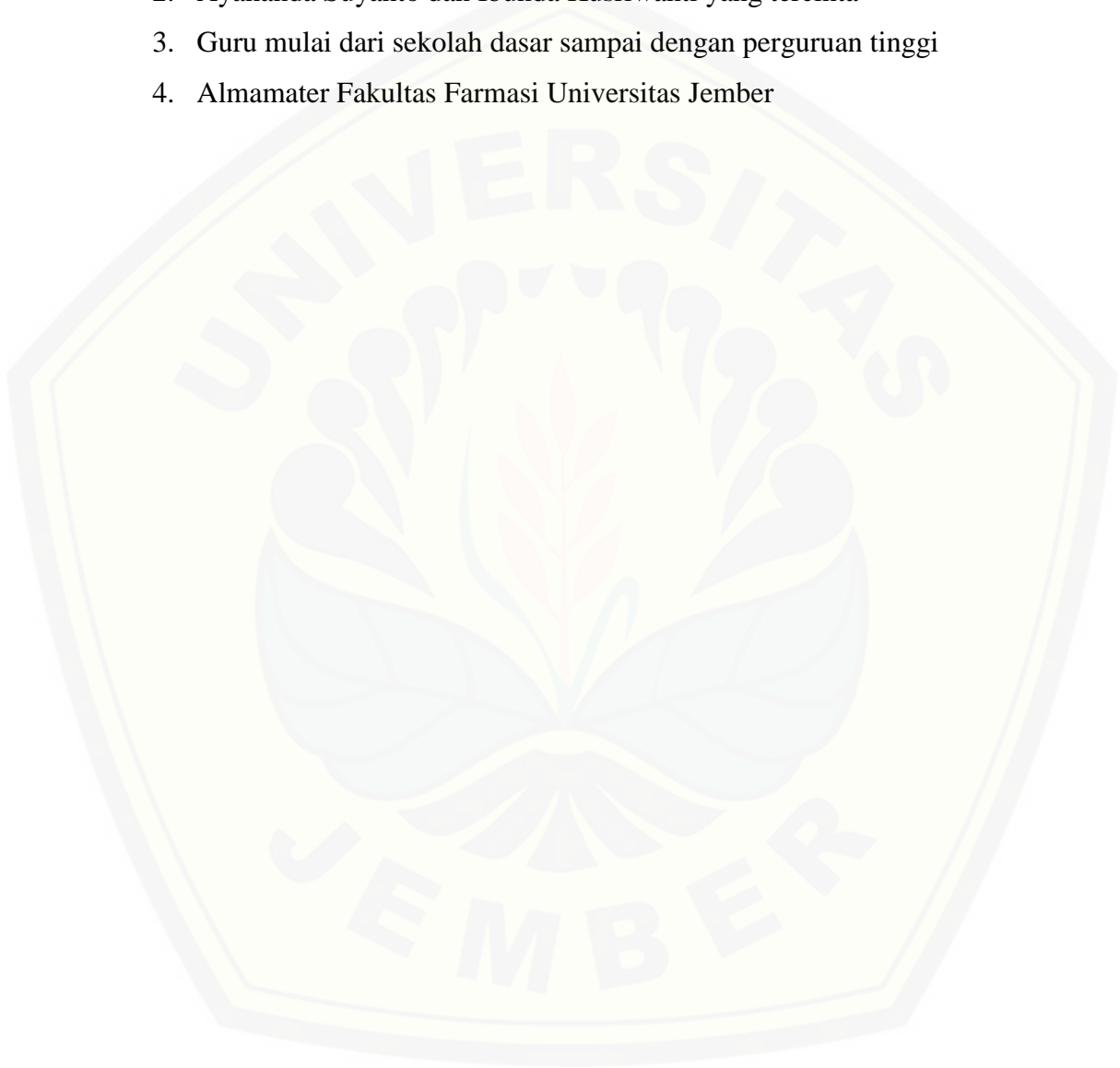
**Sri Anita Putri Ayu Wulandari
NIM 132210101080**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW
2. Ayahanda Suyanto dan Ibunda Kusriwanti yang tercinta
3. Guru mulai dari sekolah dasar sampai dengan perguruan tinggi
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember



MOTO

Pendidikan merupakan perlengkapan paling baik untuk hari tua (Aristoteles)

Hidup hanya sekali, hiduplah yang berarti (Ahmad Fuadi)

Lokasi lahir boleh dimana saja, tetapi lokasi mimpi harus dilangit (Anis Baswedan)

Semua mimpimu akan terwujud, asalkan kamu punya keberanian untuk mengejanya (Walt Disney)

Hiduplah seakan-akan kamu mati besok. Belajarlah seakan-akan kamu akan hidup selamanya (Mahatma Gandhi)

Learn from yesterday, live for today, and hope for tomorrow (Albert Einstein)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Sri Anita Putri Ayu Wulandari

NIM : 132210101080

Dengan ini menyatakan bahwa karya tulis ilmiah dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Batang Mentigi (*Vaccinium varingiaefolium*) terhadap Jumlah Neutrofil Mencit yang Diinduksi Karagenin” adalah benar karya sendiri, kecuali kutipan yang telah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Juli 2017

yang menyatakan

Sri Anita Putri Ayu W

NIM 132210101080

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% BATANG
MENTIGI (*Vaccinium varingiaefolium*) TERHADAP JUMLAH
NEUTROFIL MENCIT YANG DIINDUKSI KARAGENIN**

Oleh

Sri Anita Putri Ayu Wulandari

132210101080

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm.,Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Fransiska Maria C, S.Farm., M.Farm.,Apt.

PENGESAHAN

Karya ilmiah Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Batang Mentigi (*Vaccinium varingiaefolium*) Terhadap Jumlah Neutrofil Mencit yang Diinduksi Karagenin” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 30 Mei 2017

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Indah Yulia N., S.Farm.,M.Farm.,Apt.

Fransiska Maria,S.Farm.,M.Farm.,Apt.

NIP 198407122008122002

NIP 198404062009122008

Tim Penguji:

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.

Diana Holiday, S. F., M.Farm.,Apt

NIP 198407122008122002

NIP 198407122008122002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Batang Mentigi (*Vaccinium varingiaefolium*) terhadap Jumlah Neutrofil Mencit yang Diinduksi Karagenin; Sri Anita Putri Ayu Wulandari, 132210101080; 2017: 107 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Inflamasi merupakan suatu respon biologis yang menunjukkan adanya bahaya seperti patogen, sel-sel yang rusak dan iritasi. Inflamasi juga menjadi penyebab timbulnya beberapa penyakit, seperti asma, *rheumatoid arthritis*, *inflammatory bowel disease* bahkan kanker. Peningkatan jumlah neutrofil merupakan penanda adanya inflamasi karena neutrofil merupakan sel utama pada inflamasi dini yang bermigrasi ke jaringan dan durasinya terjadi pada 6 jam pertama inflamasi. Mentigi (*Vaccinium varingiaefolium*) merupakan tanaman yang hidup di sekitar kawah pegunungan berapi, tumbuhan ini termasuk dalam famili Ericaceae. Menurut beberapa penelitian, tanaman mentigi mengandung senyawa flavonoid, polifenol, antosianin, saponin, dan tanin. Sehingga diduga kuat tanaman mentigi ini memiliki aktifitas antiinflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% batang mentigi terhadap jumlah sel neutrofil mencit yang diinduksi karagenan, sehingga dapat digunakan sebagai terapi antiinflamasi dan mengetahui perbedaan aktivitas dari berbagai macam kelompok dosis dan kelompok kontrol serta mengetahui mutu, keamanan, dan manfaat dari ekstrak etanol 70% batang mentigi melalui karakterisasi ekstrak.

Uji aktivitas antiinflamasi menggunakan hewan uji mencit yang diinduksi karagenin dengan model inflamasi akut. Hewan uji akan diberi variasi dosis ekstrak etanol batang mentigi untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi paling optimal dengan melihat penurunan jumlah sel neutrofil mencit pada sediaan hapusan darah. Sampel darah diambil dari ekor mencit sebanyak tiga kali pada jam ke-0 (t₀), setelah tiga jam pemberian karagenan (t₃) dan setelah tiga jam dari t₃ (t₆) untuk melihat jumlah neutrofil sebelum dan sesudah perlakuan. Masing-masing sampel darah pada tiap-tiap waktu dibuat sediaan hapusan darah

dan dilakukan pengecatan sediaan hapusan darah menggunakan giemsa untuk selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah sel neutrofil. Untuk mengetahui jumlah sel neutrofil dapat dilakukan perhitungan dengan cara menghitung 100 sel leukosit kemudian dari 100 sel tersebut, neutrofil batang dan segmen dijumlahkan. Data tersebut kemudian dijumlah dan dibuat rata-rata pada masing-masing kelompok, selanjutnya dihitung penurunan jumlah sel neutrofil pada jam ke-3 dan jam ke-6 (t3-t6) tiap kelompok untuk uji statistik. Sedangkan pada karakterisasi ekstrak yang dilakukan meliputi penetapan profil kromatogram, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, dan susut pengeringan.

Hasil dari uji aktivitas antiinflamasi menunjukkan diantara ketiga dosis, dosis 1200 mg/kgBB ekstrak etanol 70% batang mentigi merupakan dosis optimal yang dapat digunakan sebagai alternatif antiinflamasi. Dosis 1200 mg/kgBB batang mentigi dapat menurunkan jumlah sel neutrofil dibandingkan dengan dosis ekstrak batang mentigi lainnya, walaupun pada kontrol positif lebih besar tetapi berdasarkan uji statistik dosis 1200 mg/kgBB dan kontrol positif tidak berbeda signifikan yang berarti memiliki aktivitas yang sebanding. Hasil karakterisasi ekstrak menunjukkan terdapat 7 puncak kromatogram pada penetapan profil kromatogram, penetapan kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam sebesar 3,52 %b/b dan 0,50 %b/b; penetapan kadar sari larut air dan larut etanol sebesar $0,7729 \pm 0,0083$ %b/b dan $0,9975 \pm 0,0072$ %b/b, serta susut pengeringan $11,6814 \pm 0,1793$ %b/b.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Batang Mentigi (*Vaccinium varingiaefolium*) terhadap Jumlah Neutrofil Mencit Yang Diinduksi Karagenan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm.,Apt. Selaku dosen pembimbing yang telah membimbing penulis selaku menjadi mahasiswa;
3. Ibu Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Fransiska Maria C, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga untuk membimbing dan mengarahkan, memberikan ilmu, masukan, saran, dan semangat sejak proposal skripsi, pelaksanaan penelitian sampai pada penyusunan skripsi;
4. Ibu Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt. dan Ibu Diana Holidah, S.F., M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas bimbingan serta bantuannya selama ini;
6. Laboran Laboratorium Fitokimia dan Biomedik Ibu Widi, Mbak Parka, Mbak Indri, dan Mbak Dini yang telah memberikan kemudahan dalam hal penggunaan alat dan bahan untuk keperluan penelitian;
7. Ayahanda Suyanto, Ibunda Kusriwanti, dan Saudaraku M.Agfa Rizky, serta keluarga tercinta yang tak henti-hentinya selalu memberikan dorongan moril, materil, spiritual hingga skripsi ini dapat terselesaikan

dengan baik, serta menjadi sumber motivasi penulis untuk selalu mengejar cita-cita dan selalu memberikan yang terbaik;

8. Teman-teman seperjuangan penelitian sekaligus sahabat “Olympus” Zulfiah Nur Fajriani dan Wilda Yuniar serta Sahabat “Ulala” Nur Marlinah dan Yuli Antika W yang telah membantu, mendampingi, dan memberikan semangat yang tak henti dari awal hingga selesainya skripsi ini;
9. Keluarga Besar Farmasetamol Fakultas Farmasi UNEJ 2013 yang selalu memberikan semangat, motivasi, dan perhatian selama penulis berjuang menempuh perkuliahan dan penelitian;
10. “Pencinta Tumbuhan Squad” dan “Pencinta Hewan Squad” yang telah memberikan motivasi, semangat, dukungan, kebahagiaan yang sangat berlebih kepada penulis;
11. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

Penulis juga sangat menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|-------------|
| HALAMAN SAMPUL | i |
| HALAMAN JUDUL | ii |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | iii |
| HALAMAN MOTO | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN | v |
| HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI | vi |
| HALAMAN PENGESAHAN | vii |
| RINGKASAN | viii |
| PRAKATA | x |
| DAFTAR ISI | xii |
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR GAMBAR | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvii |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan | 3 |
| 1.4 Manfaat | 4 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| 2.1 Tinjauan Mentigi | 5 |
| 2.1.1 Klasifikasi Tanaman..... | 5 |
| 2.1.2 Deskripsi Tanaman..... | 6 |
| 2.1.3 Kandungan Kimia | 6 |
| 2.2 Tinjauan tentang Inflamasi | 7 |
| 2.2.1 Definisi Inflamasi..... | 7 |
| 2.2.2 Jenis Inflamasi..... | 8 |
| 2.2.3 Mekanisme Migrasi Leukosit pada Inflamasi | 10 |
| 2.2.4 Tanda-tanda Inflamasi..... | 11 |

| | |
|---|-----------|
| 2.2.5 Metode Uji Antiinflamasi | 12 |
| 2.3 Tinjauan tentang Leukosit..... | 13 |
| 2.3.1 Jenis-jenis Leukosit..... | 13 |
| 2.3.2 Hitung Jenis Leukosit..... | 17 |
| 2.4 Tinjauan tentang Obat Antiinflamasi..... | 18 |
| 2.4.1 Obat Antiinflamasi Non-steroid (AINS)..... | 19 |
| 2.4.2 Obat Antiinflamasi Steroid | 21 |
| 2.5 Tinjauan tentang Asetosal | 22 |
| BAB 3. METODE PENELITIAN..... | 24 |
| 3.1 Jenis Penelitian | 24 |
| 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian..... | 24 |
| 3.3 Bahan dan Alat Penelitian | 24 |
| 3.3.1 Bahan..... | 24 |
| 3.3.2 Alat..... | 24 |
| 3.4 Variabel Penelitian | 25 |
| 3.4.1 Variabel Bebas | 25 |
| 3.4.2 Variabel Terikat | 25 |
| 3.4.3 Variabel Terkendali..... | 25 |
| 3.5 Rancangan Penelitian..... | 25 |
| 3.6 Definisi Operasional | 26 |
| 3.7 Prosedur Penelitian | 27 |
| 3.7.1 Penyiapan Hewan Uji..... | 27 |
| 3.7.2 Penyiapan Simplisia Uji..... | 27 |
| 3.7.3 Pembuatan Ekstrak..... | 28 |
| 3.7.4 Karakterisasi Ekstrak | 28 |
| 3.7.5 Penetapan Dosis Hewan Uji..... | 30 |
| 3.7.6 Pembuatan Larutan CMC Na 1%..... | 30 |
| 3.7.7 Pembuatan Suspensi Asetosal 1%..... | 30 |
| 3.7.8 Pembuatan Suspensi Karagenan 1% | 30 |
| 3.7.9 Pengujian Aktivitas Antiinflamasi | 30 |
| 3.7.10 Prosedur Perhitungan Neutrofil..... | 31 |

| | |
|--|-----------|
| 3.8 Analisis Data | 32 |
| 3.9 Skema Kerja..... | 33 |
| BAB 4. HASIL dan PEMBAHASAN | 34 |
| 4.1 Hasil..... | 34 |
| 4.1.1 Determinasi Tanaman Mentigi..... | 34 |
| 4.1.2 Ekstraksi Mentigi | 34 |
| 4.1.3 Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak etanol 70% Batang Mentigi | 34 |
| 4.1.2 Karakterisasi Ekstrak | 36 |
| 4.2 Pembahasan | 38 |
| BAB 5. PENUTUP..... | 43 |
| 5.1 Kesimpulan..... | 43 |
| 5.2 Saran | 43 |
| DAFTAR PUSTAKA | 44 |
| LAMPIRAN..... | 50 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Hitung jenis leukosit | 13 |
| 4.1 Hasil karakterisasi ekstrak etanol 70% batang mentigi | 38 |



DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Tumbuhan mentigi | 5 |
| 2.2 Gambaran inflamasi akut dibandingkan normal | 9 |
| 2.3 Mekanisme migrasi leukosit dalam pembuluh darah..... | 11 |
| 2.4 Morfologi jenis sel leukosit pada preparat darah hapus..... | 16 |
| 2.5 Biosintesis prostaglandin | 20 |
| 2.6 Struktur kimia asetosal..... | 23 |
| 3.1 Rancangan penelitian | 25 |
| 3.2 Skema kerja..... | 33 |
| 4.1 Hapusan Darah pada Kelompok Kontrol dan kelompok perlakuan dengan Pengecetan Giemsa Perbesaran 1000x Jam ke-6 (t6) | 35 |
| 4.2 Penurunan Jumlah Neutrofil menciit Setelah diberi Perlakuan pada Jam ke-3 dan ke-6 (t3-t6)..... | 36 |
| 4.3 Profil kromatogram | 37 |
| 4.4 Kromatogram tiga dimensi..... | 37 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| A. Perhitungan rendemen..... | 50 |
| B. Perhitungan dosis | 50 |
| C. Perhitungan kadar sari larut air..... | 51 |
| D. Perhitungan kadar sari larut etanol..... | 54 |
| E. Perhitungan susut pengeringan | 55 |
| F. Hasil determinasi tanaman mentigi..... | 56 |
| G. Keterangan persetujuan etik | 57 |
| H. Hasil kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam..... | 58 |
| I. Perhitungan hitung jenis leukosit..... | 59 |
| J. Data perhitungan dan analisis data | 84 |
| K. Hasil uji statistik..... | 85 |
| L. Dokumentasi | 88 |

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflamasi merupakan suatu respon biologis yang menunjukkan adanya bahaya seperti patogen, sel-sel yang rusak dan iritasi. Selain itu, inflamasi merupakan proses perlindungan untuk menghilangkan partikel asing dan untuk memulai proses penyembuhan (Signore, 2013). Inflamasi merupakan penyebab terjadinya penyakit radang seperti asma, *rheumatoid arthritis*, *inflammatory bowel disease*, psoriasis bahkan kanker (Serhan *et al.*, 2007). Prevalensi penyakit imun yang disebabkan oleh inflamasi di Eropa adalah sekitar 5-7% (Kuek *et al.*, 2007). Sedangkan di Indonesia, berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (2013) diketahui bahwa usia 25-34 tahun memiliki prevalensi asma tertinggi yaitu 5,7% dan usia <1 tahun memiliki prevalensi asma terendah yaitu 1,5%, dan prevalensi *rheumatoid arthritis* pada usia ≥ 15 tahun sebesar 24,7 %, dan prevalensi kanker pada semua usia sebesar 1,4%.

Respon inflamasi terjadi dalam tiga tahap, yaitu fase akut yang ditandai dengan vasodilatasi lokal dan peningkatan permeabilitas kapiler, fase sub akut yang ditandai dengan adanya infiltrasi leukosit dan fagosit sel serta fase kronis yang ditandai dengan adanya degenerasi dan fibrosis jaringan (Rotelli *et al.*, 2003). Pada proses inflamasi terjadi peningkatan neutrofil karena neutrofil merupakan sel utama pada inflamasi dini yang bermigrasi ke jaringan dan durasinya terjadi pada 6 jam pertama inflamasi (Baratawidjaja, 2010). Pelepasan neutrofil ini dipacu oleh sebagian reseptor endotel dan adhesi leukosit untuk mengatur kerusakan jaringan (Coxon *et al.*, 1996).

Obat antiinflamasi yang sering digunakan adalah obat anti-Inflamasi non-steroid (AINS). Akan tetapi obat antiinflamasi ini memiliki efek samping seperti perdarahan gastro intestinal, kerusakan mukosa, dispepsia, mual, muntah, nyeri perut, nyeri dada, maag perforasi, obstruksi, perdarahan intrakranial, ulserasi lambung, kardiovaskuler trombotik (Sostres *et al.*, 2010), dan pada beberapa orang bahkan dapat menyebabkan kematian (Cuzick *et al.*, 2009). Karenanya,

perlu dilakukan penelitian mengenai obat antiinflamasi yang memiliki efek samping lebih ringan.

Alternatif yang dapat digunakan untuk pengembangan obat antiinflamasi yaitu dengan penggunaan tanaman obat, karena dinilai lebih aman dari segi efek samping dan toksisitas (Awang, 2009). Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antiinflamasi adalah genus *Vaccinium*. Menurut Luo *et al.* (2014), ekstrak buah bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) mengandung senyawa antosianin yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi yang kuat pada inflamasi akut dan pada inflamasi hati *in vivo*. Ekstrak aseton dan metanol daun dan buah *Vaccinium leschenaultii* diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi dan *antiulcerogeni* (Nagulsamy *et al.*, 2015). Menurut Esposito *et al.* (2014), ekstrak buah blueberry (*Vaccinium angustifolium* Ait) memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi pada inflamasi akut maupun inflamasi kronik. Dari beberapa penelitian mengenai genus *Vaccinium* tersebut, menarik perhatian peneliti untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antiinflamasi pada genus *Vaccinium* yang lain seperti mentigi (*Vaccinium varingiaefolium*), karna belum adanya penelitian mengenai aktivitas antiinflamasi pada mentigi.

Mentigi merupakan salah satu tumbuhan yang tumbuh alami di pulau Jawa. Tumbuhan ini hidup di sekitar kawah pegunungan berapi (Sadiyah dan Kodir, 2012). Tumbuhan ini termasuk dalam genus Ericaceae yang mempunyai nama daerah Manis Rejo (Jawa), Cantigi (Sunda) dan Delima Montak (Kalimantan Timur) dan masih kerabat dekat *bilberry*, *huckelberry*, *blueberry*, *cranberry* yang telah banyak diteliti dan dimanfaatkan. Ekstrak etil asetat daun mentigi mengandung senyawa flavonoid, steroid, tanin dan triterpenoid (Yulyana *et al.*, 2016). Menurut Sadiyah dan Kodir (2012), mentigi diduga kuat mengandung antosianidin penoidin dan sianidin. Sedangkan menurut Setiawati (2008) daun tanaman mentigi memiliki kandungan kimia berupa glikosida saponin, flavonoid, polifenol dan minyak atsiri. Pada batang tanaman mentigi mengandung saponin, flavonoid dan polifenol.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek antiinflamasi pada batang mentigi, batang mentigi dipilih karena belum ada penelitian mengenai aktivitas

batang mentigi. Batang mentigi yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang mentigi muda berwarna kemerahan yang diduga akibat adanya kandungan antosianin. Menurut Vendrame dan Klimis-Zacas (2015), antosianin memiliki aktivitas antiinflamasi dengan cara menurunkan konsentrasi dan pelepasan mediator proinflamasi dan meningkatkan molekul antiinflamasi, mengurangi aktivitas iNOS dan COX-2 sehingga pelepasan neutrofil akan terganggu. Pengujian efek antiinflamasi dimulai dari pemberian variasi dosis ekstrak etanol 70% batang mentigi pada hewan uji untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi yaitu dilihat dari jumlah sel neutrofil pada sediaan hapus darah.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

- a. Bagaimanakah pengaruh pemberian berbagai macam dosis ekstrak etanol 70% batang mentigi terhadap jumlah sel neutrofil mencit yang diinduksi karagenin ?
- b. Bagaimanakah karakteristik dari ekstrak etanol 70% batang mentigi (penetapan profil kromatogram, penetapan kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, serta susut pengeringan) ?

1.3 Tujuan

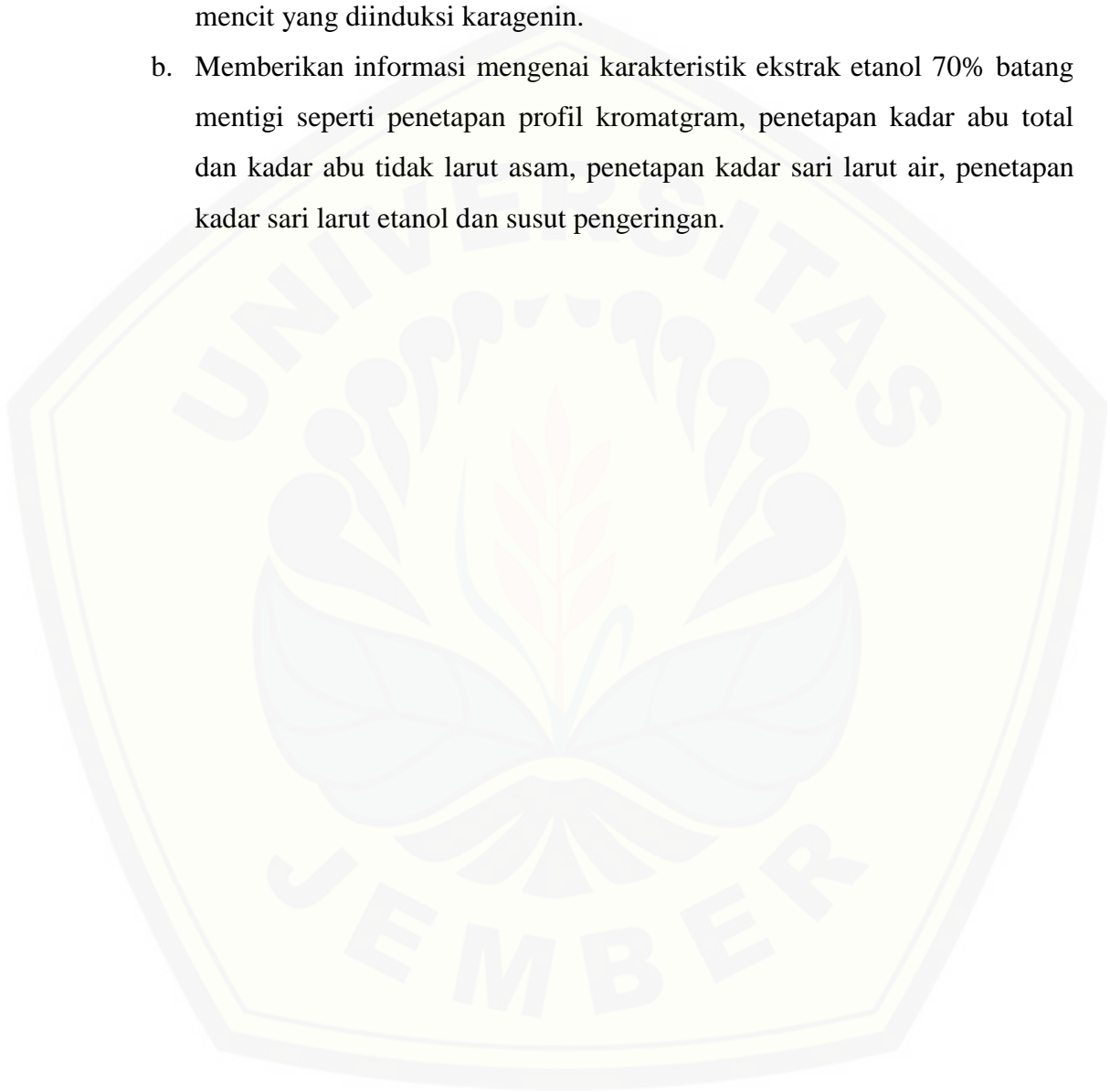
Penelitian ini memiliki tujuan antara lain:

- a. Mengetahui pengaruh pemberian berbagai dosis ekstrak etanol 70% batang mentigi terhadap jumlah sel neutrofil mencit yang diinduksi karagenin.
- b. Mengetahui karakteristik ekstrak etanol 70% batang mentigi yang meliputi penetapan profil kromatogram, penetapan kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol dan susut pengeringan.

1.4 Manfaat

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah:

- a. Memberikan informasi dan bukti ilmiah mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% batang mentigi terhadap jumlah neutrofil neutrofil mencit yang diinduksi karagenin.
- b. Memberikan informasi mengenai karakteristik ekstrak etanol 70% batang mentigi seperti penetapan profil kromatogram, penetapan kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol dan susut pengeringan.

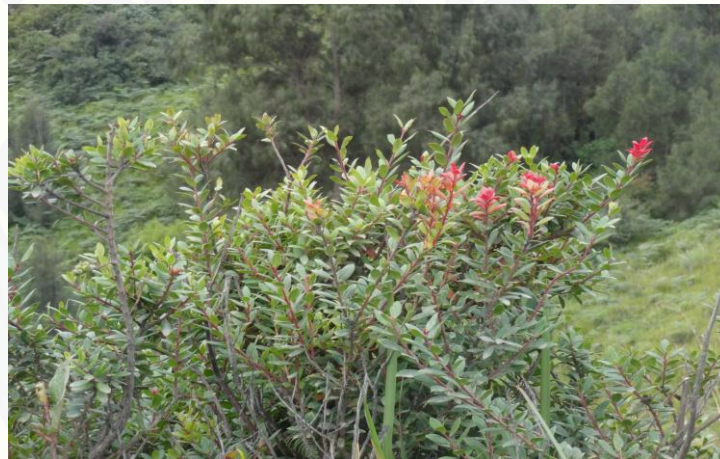


BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Mentigi

Mentigi merupakan salah satu tumbuhan yang hidup alami di pulau Jawa. Tumbuhan ini biasanya hidup di sekitar kawah pegunungan berapi (Sadiyah dan Kodir, 2012). Mentigi mempunyai nama daerah seperti Manis Rejo (Jawa), Cantigi (Sunda) dan Delima Montak (Kalimantan Timur) dan masih berkerabat dekat dengan *bilberry*, *huckelberry*, *blueberry*, *cranberry* yang telah banyak diteliti dan dimanfaatkan (Forney *et al.*, 2012).

2.1.1 Klasifikasi Mentigi



Gambar 2.1 Tumbuhan mentigi (Dokumen Pribadi)

Klasifikasi mentigi adalah sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae
- Subkingdom : Tracheobionta
- Super Divisi : Spermatophyta
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Sub Kelas : Dilleniidae
- Ordo : Ericales
- Famili : *Ericaceae*

Genus : *Vaccinium*
Spesies : *Vaccinium varingiaefolium* (Bl.) Miq
(Ayu, 2015)

2.1.2 Deskripsi Tanaman

Mentigi memiliki habitus berupa perdu atau pohon kecil dengan tinggi 0.1-10 meter. Tumbuhan ini memiliki bunga dan buah yang dapat dijumpai sepanjang tahun. Daun mudanya berwarna merah keunguan dengan tangkai berwarna merah. Bunganya majemuk dengan helaian mahkota berwarna merah keunguan. Buah mentigi merupakan buah buni, berwarna hijau pada saat muda dan akan berubah menjadi biru-ungu kehitaman pada saat matang (Sadiyah dan Kodir, 2012).

Bagian dalam buah mentigi terdapat kulit buah yang dilanjutkan dengan daging buah (mesokarp). Daging buah mentigi berwarna lebih terang (ungu kemerahan). Buah mentigi tidak beraroma khas, tapi memiliki rasa yang manis kesat. Permukaan buah mentigi memiliki rambut penutup yang tampak seperti lapisan putih-pucat (Sadiyah dan Kodir, 2012). Mentigi tumbuh di atas ketinggian 1350 mdpl, terutama banyak terdapat di ketinggian 1800-3340 mdpl. Mentigi merupakan penyusun utama hutan elfin dan hutan lumut, pada punggung bukit, lereng, dan puncak. Dominansi spesies ini mudah terlihat bila daun muda merona merah di hutan puncak. Mentigi bersama dengan *Rhododendron retusum*, *Myrsine*, *Histiopteris incisa*, *Selligna*, dan *Dianella javanica* yang merupakan tumbuhan yang tahan terhadap asap belerang dan tanah kawah beracun (Steenis, 2006).

2.1.3 Kandungan Tanaman

Pada penelitian yang dilakukan oleh Setiawati (2008), daun tanaman mentigi memiliki kandungan kimia berupa glikosida saponin, flavonoid, senyawa polifenol, dan minyak atsiri, sedangkan pada batangnya mengandung saponin, flavonoid, dan senyawa polifenol. Selain itu, ekstrak etil asetat daun mentigi mengandung senyawa flavonoid, steroid, tanin dan triterpenoid (Yulyana *et al.*,

2016). Menurut Sadiyah dan Kodir (2012), mentigi diduga kuat mengandung antosianidin penoidin dan sianidin.

Selain mentigi, penelitian lain juga menyebutkan bahwa pada genus *Vaccinium* lainnya juga memiliki kandungan kimia yang sama yaitu pada batang dan daun bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) kaya akan kandungan senyawa fenolik (flavonoid, asam fenolik, dan protoantosianidin) (Bujor *et al.*, 2016). Sedangkan pada buah bilberry (*Vaccinium myrtillus*) dan blueberry (*Vaccinium corymbosum*), mengandung antosianin dan flavonol yang merupakan flavonoid utama dalam buah bilberry dan blueberry tetapi, jumlah keduanya dalam buah bilberry lebih besar tiga kali lipat dibandingkan pada buah blueberry. Namun, buah blueberry mengandung kadar asam hidrosinamat dan flavonol yang tinggi. Pada daun keduanya, kandungan yang paling banyak dijumpai adalah flavonoid dan asam hidrosinamat. Sedangkan pada akarnya hanya ditemukan asam hidrosinamat dan prosianidin (Riihinen *et al.*, 2008). Menurut Martz (2010), daun bilberry mengandung kadar senyawa fenolik yang tinggi, terutama asam hidrosinamat, flavonol, katekin, dan proantosianidin. Pada penelitian Rui (2011) menyebutkan bahwa buah *Vaccinium uliginosum* mengandung 11 antosianin (delfinidin 3,5-diglukosida, delfinidin 3-glukosida, delfinidin 3-arabinosida, sianidin 3-glukosida, petunidin 3-glukosida, malvidin 3-(6-caffeoyl-glucosida) atau malvidin 3,5-diglukosida, peonidin 3-glukosida, malvidin 3-glukosida, malvidin 3-arabinosida, delfinidin 3-kuersetin-(600-asetil)-galaktosida, petunidin 3-(600-asetil)-galaktosida) dan 2 flavonol (kuersetin 3-rutinosida dan kuersetin).

2.2 Tinjauan Inflamasi

2.2.1 Definisi Inflamasi

Inflamasi ialah respon fisiologi yang merupakan reaksi lokal jaringan terhadap infeksi atau cedera yang melibatkan lebih banyak mediator dibanding respon imun. Respon inflamasi merupakan salah satu mekanisme alami yang paling penting dan merupakan respon tubuh terhadap luka jaringan (Baratawidjaja, 2010).

Inflamasi adalah respon protektif yang melibatkan sel induk, pembuluh darah, dan protein serta mediator lain untuk menghilangkan penyebab awal kerusakan sel, serta sel-sel nekrotik dan untuk memulai proses perbaikan (Kumar *et al.*, 2012). Inflamasi adalah respon normal, pelindung terhadap cedera jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, bahan berbahaya atau agen mikrobiologis (Sen *et al.*, 2010). Sebagai pelindung, inflamasi akan melarutkan, menghancurkan dan menetralkan agen-agen berbahaya seperti mikroba dan racun dan merintis jalan untuk pemulihan jaringan yang rusak. Tanpa adanya inflamasi, infeksi tidak dapat terkendali dan luka tidak akan sembuh. Meskipun inflamasi membantu proses penyembuhan infeksi dan rangsangan berbahaya lainnya untuk memulai perbaikan, akan tetapi reaksi inflamasi dan proses perbaikan sendiri dapat menimbulkan bahaya yang cukup besar jika tidak segera ditangani. Komponen reaksi inflamasi yang merusak dan menghilangkan mikroba serta jaringan mati itu sendiri juga mampu melukai jaringan normal (Kumar *et al.*, 2012). Saat terjadi inflamasi banyak mediator kimiawi yang dilepaskan secara lokal seperti histamin, 5-hidroksitriptamin (5HT) atau serotonin, faktor kemotaktik, bradikinin, leukotrien dan prostaglandin (Utami, 2011).

2.2.2 Jenis Inflamasi

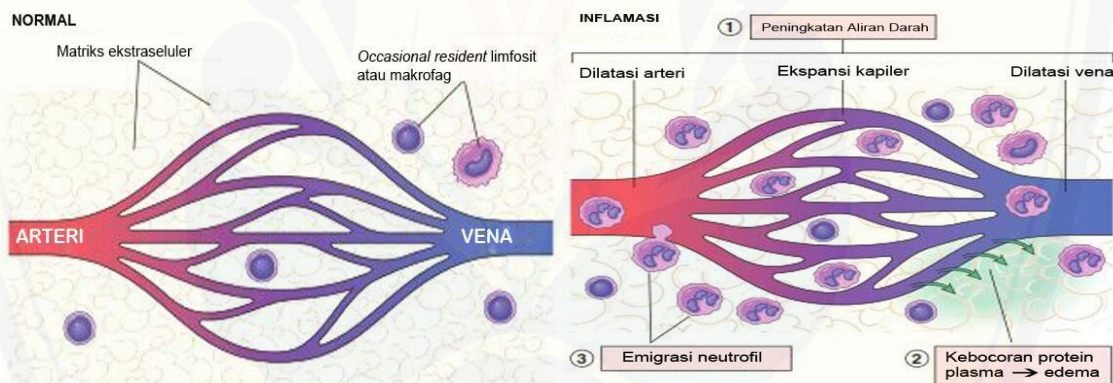
Inflamasi dibagi menjadi 2 yaitu inflamasi akut dan inflamasi kronik (Sen *et al.*, 2010). Inflamasi akut terjadi secara cepat dengan onset dan durasi pendek, yang berlangsung selama beberapa menit hingga beberapa hari, dan ditandai dengan adanya cairan dan eksudasi protein plasma dan akumulasi leukosit yang didominasi neutrofil. Sedangkan Inflamasi kronik lebih berbahaya dibandingkan dengan inflamasi akut, karena inflamasi kronik memiliki durasi yang lebih lama (hari ke tahun), dan ditandai dengan masuknya limfosit dan makrofag yang menyebabkan proliferasi pembuluh darah dan fibrosis (jaringan parut) (Tambayong, 2000).

a. Inflamasi Akut

Respon inflamasi akut dengan cepat menghadirkan leukosit dan protein plasma ke lokasi cedera. Pada lokasi cedera, leukosit membersihkan invasi dan

memulai proses mencerna dan menyingkirkan jaringan nekrotik. Inflamasi akut memiliki dua komponen utama yaitu (Gambar 2.2):

1. Perubahan vaskular adalah perubahan dalam pembuluh kapiler yang mengakibatkan peningkatan aliran darah (vasodilatasi) dan perubahan dinding pembuluh yang memungkinkan protein plasma untuk meninggalkan sirkulasi (peningkatan permeabilitas pembuluh darah). Selain itu, sel-sel endotel akan diaktifkan, sehingga mengakibatkan peningkatan adhesi leukosit dan migrasi leukosit melalui dinding pembuluh darah.
2. Peristiwa seluler adalah emigrasi leukosit dari sirkulasi dan akumulasi dalam cedera (perekrutan seluler), diikuti oleh aktivasi leukosit, sehingga memungkinkan leukosit untuk menghilangkan agen penyebab inflamasi. Leukosit utama dalam inflamasi akut adalah neutrofil (polimorfonuklear leukosit) (Tambayong, 2000).



Gambar 2.2 Gambaran Inflamasi Akut dibandingkan Normal (Kumar *et al.*, 2012)

Reaksi inflamasi akut disebabkan oleh beberapa rangsangan seperti :

- a) Infeksi (bakteri, virus, jamur, parasit) adalah salah satu penyebab paling umum dan secara medis penting sebagai penyebab inflamasi.
- b) Trauma fisik dan berbagai senyawa kimia (misalnya, cedera termal, seperti luka bakar atau radang; iradiasi; dan toksisitas dari bahan kimia) melukai sel induk dan menimbulkan reaksi inflamasi.
- c) Jaringan nekrosis (dari sebab apapun), termasuk iskemia (seperti dalam infark miokard) dan cedera fisik dan kimia.

- d) Benda asing (serpihan, kotoran, jahitan, dan kristal deposit).
- e) Respon imun (juga disebut reaksi hipersensitivitas).

b. Inflamasi Kronik

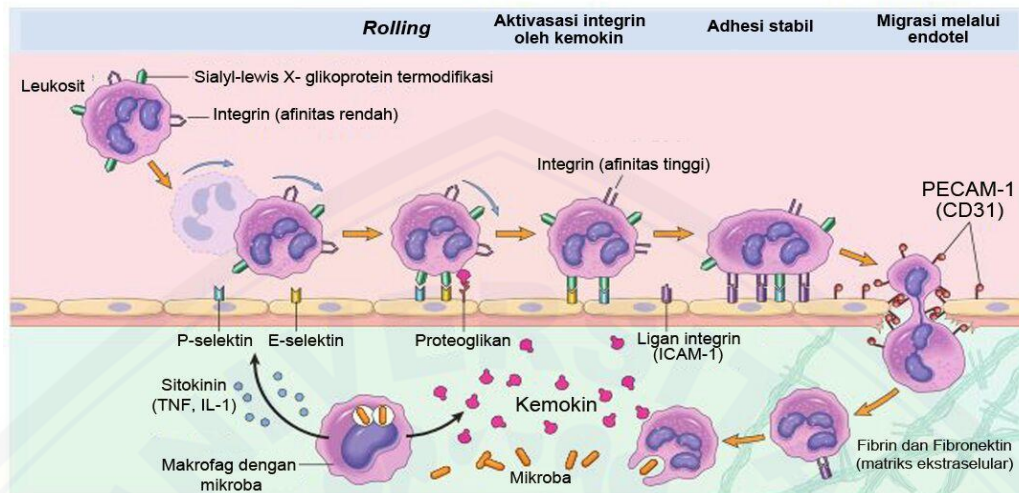
Inflamasi kronis disebabkan oleh rangsangan yang menetap, seringkali selama beberapa minggu atau bulan yang menyebabkan infiltrasi mononuklear dan proliferasi fibroblas. Sel-sel darah putih yang tertimbun sebagian besar terdiri dari sel makrofag dan limfosit, kadang-kadang juga ditemukan sel plasma, sehingga eksudat leukosit pada inflamasi kronis disebut monomorfonuklear untuk membedakan dari eksudat polimorfonuklear pada inflamasi akut (Tambayong, 2000; Kumar *et al.*, 2012).

2.2.3 Mekanisme Migrasi Leukosit pada Inflamasi

Leukosit biasanya mengalir dengan cepat di dalam darah. Pada kondisi inflamasi, leukosit berhenti dan dibawa ke lokasi kerusakan jaringan, yang biasanya terdapat di luar pembuluh darah. Urutan kejadian dalam perekrutan leukosit dari lumen pembuluh darah ke ruang ekstrasvaskuler terdiri dari: (1) marginasi dan bergulir sepanjang dinding pembuluh, (2) adhesi kuat pada endotel, (3) transmigrasi antara sel-sel endotel dan, (4) migrasi jaringan interstitial menuju stimulus kemotaktik (Amulic *et al.*, 2012) (Gambar 2.3). Tahapan-tahapan tersebut terjadi akibat adanya interaksi molekul adhesi pada leukosit dan permukaan endotel. Mediator kimia dan sitokimia mempengaruhi proses ini dengan memodulasi ekspresi permukaan dan afinitas molekul adhesi dengan merangsang gerakan arah dari leukosit (Kumar *et al.*, 2012).

Mekanisme terjadinya migrasi leukosit yaitu molekul memperantarai interaksi endotel dan neutrofil dengan cara adhesi melalui selektin dan protein terglykosilasi pada sel endotel, selanjutnya leukosit teraktivasi oleh mediator kemokin sehingga meningkatkan aviditas integrin. Kemudian, terjadi adhesi yang kuat melalui interaksi antara reseptor sel endotel dengan integrin, sehingga integrin *leukocyte function-associated antigen-1* (LFA-1) dan integrin Mac-1 pada leukosit berikatan dengan *intercellular cell adhesion molecule 1* (ICAM-1) pada sel endotel. Setelah itu, terjadi interaksi antara *platelet endothelial cell adhesion*

molecule 1 (PECAM-1) pada leukosit dan sel endotel yang memperlancar transmigrasi antar sel (Kumar *et al.*, 2012).



Gambar 2.3 Mekanisme migrasi leukosit dalam pembuluh darah (Kumaret *al.*, 2012)

2.2.4 Tanda-Tanda Inflamasi

Terdapat lima tanda-tanda pokok inflamasi yaitu kemerahan (*rubor*), panas (kalor), pembengkakan (*tumor*), rasa sakit (*dolor*), dan perubahan fungsi (*functio laesa*) (Sader, 2010). Kemerahan di daerah inflamasi terjadi pada tahap pertama dari proses inflamasi. Ketika reaksi inflamasi mulai timbul, maka arterioli yang mensuplai daerah tersebut melebar, sehingga lebih banyak darah mengalir ke dalam mikrosirkulasi lokal. Kapiler-kapiler yang sebelumnya kosong atau sedikit terisi darah akan meregang dengan cepat dan terisi penuh dengan darah. Kalor atau panas terjadi bersamaan dengan kemerahan dari reaksi inflamasi. Daerah inflamasi pada kulit menjadi lebih panas dari sekelilingnya, sebab darah (pada suhu 37°C) yang disalurkan tubuh ke permukaan daerah luka lebih banyak daripada yang disalurkan ke daerah normal. Pembengkakan ditimbulkan oleh pengiriman cairan dan sel-sel dari sirkulasi darah ke jaringan-jaringan interstisial. Rasa sakit dari reaksi inflamasi dapat dihasilkan dengan berbagai cara. Perubahan pH lokal atau konsentrasi lokal ion-ion tertentu dapat merangsang ujung-ujung saraf. Pengeluaran zat kimia tertentu seperti histamin juga dapat merangsang saraf. Selain itu, pembengkakan jaringan yang meradang mengakibatkan

peningkatan tekanan lokal yang dapat menimbulkan rasa sakit. Hilangnya fungsi terjadi akibat penumpukan cairan dan rasa nyeri yang mengurangi mobilitas pada tempat yang mengalami inflamasi (Price dan Wilson, 2006; Sader, 2010).

2.2.5 Metode Uji Inflamasi

Metode uji antiinflamasi akut dan sub akut menurut Patel *et al.* (2012) adalah UV-eritema pada hewan babi, permeabilitas vaskular, induksi oxazonol pada telinga mencit, edema minyak *croton* pada tikus dan mencit, induksi radang, uji pleura, dan teknik pembuatan granuloma.

Penelitian ini menggunakan uji antiinflamasi dengan induksi radang pada telapak kaki mencit galur Balb-C jantan menggunakan karagenin. Uji aktivitas antiinflamasi dengan metode induksi karagenin merupakan salah satu metode yang sederhana, mudah, dan sering dilakukan. Selain itu pembentukan radang oleh karagenin tidak menyebabkan kerusakan jaringan (Fitriyani, 2011). Karagenin digunakan sebagai penginduksi inflamasi karena ada beberapa keuntungan yang didapat antara lain tidak menimbulkan kerusakan jaringan, tidak menimbulkan bekas, dan memberikan respon yang lebih peka terhadap obat antiinflamasi (Vogel, 2002).

Ada tiga fase pembentukan udem yang diinduksi oleh karagenan. Fase pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin yang berlangsung hingga 90 menit. Fase kedua adalah pelepasan brandikinin yang terjadi pada 1,5 hingga 2,5 jam setelah induksi. Pada fase ketiga, terjadi pelepasan prostaglandin pada 3 jam setelah induksi, kemudian udem berkembang cepat dan bertahan pada volume maksimal sekitar 5 jam setelah induksi. Pelepasan prostaglandin juga bersamaan dengan migrasi leukosit pada daerah radang. Prostaglandin merupakan mediator inflamasi yang berasal dari asam arakidonat oleh aksi dari siklooksigenase. Neutrofil akan bermigrasi ke tempat terjadinya inflamasi, yaitu tempat dilepaskannya mediator inflamasi (Morris, 2003). Menurut Corsini *et al.* (2005), udem yang disebabkan oleh karagenin bisa bertahan selama 6 jam dan berangsur-angsur berkurang dalam waktu 24 jam (Hidayati, 2008).

2.3 Tinjauan Leukosit

Leukosit juga disebut sel darah putih, merupakan unit aktif dari sistem pelindung tubuh. Leukosit sebagian terbentuk dalam sumsum tulang (granulosit, monosit, dan beberapa limfosit) dan sebagian di jaringan getah bening (limfosit dan sel plasma). Setelah terbentuk, leukosit diangkut dalam darah ke berbagai bagian tubuh yang membutuhkan. Sebagian besar dari leukosit secara khusus diangkut ke daerah infeksi serius dan inflamasi, sehingga memberikan pertahanan yang cepat dan kuat terhadap agen infeksi, seperti granulosit dan monosit yang memiliki kemampuan khusus untuk "mencari dan menghancurkan" benda asing (Guyton dan Hall, 2006).

Dalam tubuh manusia dewasa dapat dijumpai sekitar 7000 sel darah putih per mikroliter darah (dibandingkan dengan 5 juta sel darah merah), dan jumlah trombosit biasanya sekitar 300.000. Dari total sel darah putih, persentase normal dari berbagai jenis leukosit ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Hitung jenis leukosit

| Jenis leukosit | Presentase normal(%) |
|----------------------------|----------------------|
| Polimorfonuklear neutrofil | 62,0 |
| Polimorfonuklear eosinofil | 2,3 |
| Polimorfonuklear basofil | 0,4 |
| Monosit | 5,3 |
| Limfosit | 30,0 |

Sumber: Guyton dan Hall (2006)

2.3.1 Jenis-Jenis Leukosit

Leukosit tidak memiliki hemoglobin (berbeda dengan eritrosit), sehingga tidak berwarna (putih) kecuali jika diwarnai secara khusus agar terlihat di bawah mikroskop. Tidak seperti eritrosit yang strukturnya uniform, berfungsi identik, dan jumlahnya konstan, leukosit memiliki struktur, fungsi, dan jumlah bervariasi. Terdapat lima jenis leukosit yang bersirkulasi yaitu neutrofil, eosinofil, basofil, monosit dan limfosit. Masing-masing leukosit tersebut memiliki struktur dan fungsi yang khas. Leukosit berukuran sedikit lebih besar daripada eritrosit.

Kelima jenis leukosit tersebut dibagi ke dalam dua kategori utama, yaitu bergantung pada gambaran nukleus dan ada tidaknya granula di sitoplasma ketika diperiksa di bawah mikroskop. Neutrofil, eosinofil, dan basofil dikategorikan sebagai granulosit (sel yang banyak mengandung granula) atau polimorfonukleus (banyak bentuk nukleus). Nukleus sel-sel ini tersegmentasi menjadi beberapa lobus dengan beragam bentuk, dan sitoplasma mereka mengandung banyak granula terbungkus membran.

a. Granulosit

Granulosit memiliki granula kecil di dalam protoplasmanya, memiliki diameter sekitar 10 -12 mikron. Berdasarkan pewarnaan granula, granulosit dibagi menjadi tiga kelompok berikut:

1) Neutrofil

Berukuran lebih besar dari limfosit kecil, berbentuk bulat dengan sitoplasma yang banyak agak kemerahan. Inti berwarna ungu, berbentuk batang atau segmen. Dikatakan berbentuk batang apabila lekukan inti melebihi setengah diameter inti; berbentuk segmen bila inti terbagi menjadi beberapa bagian yang saling dihubungkan dengan benang kromatin. Sitoplasma bergranula berwarna keunguan. Neutrofil merupakan leukosit darah perifer yang paling banyak. Sel ini memiliki masa hidup singkat, sekitar 10 jam dalam sirkulasi. Sekitar 50 % neutrofil dalam darah perifer menempel pada dinding pembuluh darah. Neutrofil memasuki jaringan dengan cara bermigrasi sebagai respon terhadap kemotaktik (Hoffbrand dan Mehta, 2005). Gambar morfologi neutrofil dalam sedimen hapusan darah dapat dilihat pada Gambar 2.4(a) dan 2.4(b).

Neutrofil yang cacat dapat dilihat dari jumlah maupun bentuknya. Bentuk maupun jumlahnya berpotensi untuk menjelaskan tingkat infeksi. Jumlah neutrofil pada mencit yaitu $0,3-2,5 \times 10^3/\mu\text{l}$. Neutrofilia merupakan peningkatan jumlah neutrofil. Penurunan jumlah sel neutrofil di dalam sirkulasi (neutropenia) dapat terjadi karena adanya peningkatan destruksi sel neutrofil di dalam peredaran darah, peningkatan pengeluaran neutrofil ke dalam jaringan tanpa diimbangi oleh pemasukan ke dalam sirkulasi darah dan penurunan produksi sel neutrofil di sumsum tulang (Feldman, 2000).

2) Eosinofil

Bentuk dan ukurannya sama dengan neutrofil, akan tetapi sitoplasmanya dipenuhi oleh granula yang besar, bulat, ukurannya sama besar dan berwarna kemerahan dengan pewarnaan asam seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 2.4(c), banyaknya kira-kira 24 % (Handayani, 2008). Sel ini sangat penting dalam respon terhadap penyakit parasitik dan alergi. Pelepasan isi granul ke patogen yang lebih besar membantu proses destruksi dan fagositosis berikutnya (Hoffbrand dan Mehta, 2005). Fungsi utama eosinofil adalah detoksifikasi, baik terhadap protein asing yang masuk ke dalam tubuh melalui paru-paru ataupun saluran cerna; dan racun yang dihasilkan oleh bakteri dan parasit. Eosinofilia merupakan peningkatan jumlah eosinofil dalam darah.

3) Basofil

Sel ini tidak selalu dapat dijumpai, bentuk dan ukurannya menyerupai neutrofil, sitoplasmanya mengandung granula bulat besar tidak sama besar, berwarna biru tua, dan granula dapat menutupi inti. Kadang-kadang dapat dijumpai adanya vakuola kecil di sitoplasma, banyaknya kira-kira 0,5 % di sumsum merah (Handayani, 2008). Gambar morfologi basofil dalam sediaan hapus dapat dilihat pada Gambar 2.4(d). Jumlah basofil di dalam sirkulasi darah relatif sedikit. Di dalam sel basofil terkandung zat heparin (antikoagulan). Heparin ini dilepaskan di daerah peradangan guna mencegah timbulnya pembekuan serta statis darah dan limfa, sehingga sel basofil diduga merupakan prekursor bagi sel mast. Basofilia merupakan peningkatan jumlah basofil dalam sirkulasi. Penurunan jumlah sel basofil dalam sirkulasi darah disebut basopenia.

b. Agranulosit

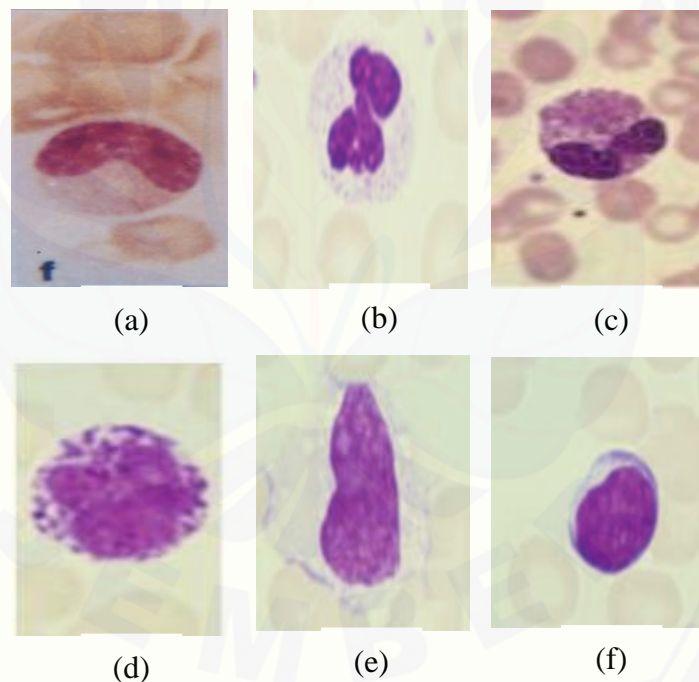
1) Limfosit

Macam limfosit antara lain limfosit kecil dan limfosit besar. Limfosit kecil berukuran 8-10 μm , berbentuk bulat, berinti kira-kira sebesar ukuran eritrosit normal, inti limfosit mengisi sebagian besar dari ukuran sel dengan kromatin yang padat bergumpal berwarna biru ungu tua, dan sitoplasmanya tidak mengandung granula. Limfosit besar berukuran 12–16 μm , berbentuk bulat atau agak tak beraturan, berinti oval atau bulat, terletak di tepi sel seperti yang ditunjukkan

Gambar 2.4(e). Sitoplasmanya relatif lebih banyak dibandingkan limfosit kecil, berwarna biru muda atau dapat mengandung granula azurofil berwarna merah.

2) Monosit

Monosit memiliki ukuran yang lebih besar daripada limfosit, protoplasmanya besar, warna biru sedikit abu-abu, serta mempunyai bintik-bintik sedikit kemerahan. Inti selnya bulat atau panjang. Monosit dibentuk di dalam sumsum tulang, masuk ke dalam sirkulasi dalam bentuk imatur dan mengalami proses pematangan menjadi makrofag setelah masuk ke jaringan (berfungsi sebagai fagosit). Jumlahnya 34% dari total komponen yang ada di sel darah putih (Handayani, 2008). Gambar morfologi monosit dalam sediaan hapus dapat dilihat pada Gambar 2.4(f).



Gambar 2.4 Morfologi jenis sel leukosit pada preparat darah hapus (a) neutrofil batang; (b) neutrofil segmen; (c) eosinofil; (d) basofil; (e) monosit; dan (f) limfosit (Hoffbrand dan Mehta, 2005)

Sel leukosit utama yang terlibat dalam mekanisme inflamasi akut adalah neutrofil. Neutrofil kadang disebut “*soldier of the body*” karena merupakan sel pertama yang dikerahkan ke tempat inflamasi. Neutrofil merupakan sebagian

besar dari leukosit dalam sirkulasi darah. Neutrofil biasanya hanya berada dalam sirkulasi kurang 7-10 jam sebelum bermigrasi ke jaringan. Untuk memenuhi hal tersebut diperlukan peningkatan produksi neutrofil dalam sumsum tulang. Orang dewasa normal memproduksi lebih dari 10^{10} neutrofil perhari, tetapi pada inflamasi dapat meningkat sampai 10 kali lipat. Pada inflamasi akut, neutrofil dalam sirkulasi dapat meningkat dengan segera dari 5000 μ l sampai 30000 μ l. Peningkatan tersebut disebabkan oleh migrasi neutrofil ke sirkulasi yang berasal dari sumsum tulang dan persediaan marginal intravaskular. Butir-butir azurofilik primer (lisosom) mengandung hidrolase asam, mieloperoksidase, dan neuromidase (lisozim), sedangkan butir-butir sekunder atau spesifik mengandung laktoferin dan lisozim. Neutrofil mempunyai reseptor untuk IgG dan komplemen. Neutrofil yang bermigrasi pertama dari sirkulasi ke jaringan terinfeksi dengan cepat dilengkapi dengan berbagai reseptor seperti *Toll Like Receptor* (TLR2), dan TLR4 (Baratawidjaja, 2010).

2.3.2 Hitung Sel Leukosit

Hitung jenis leukosit hanya menunjukkan jumlah relatif dari masing-masing jenis sel. Jumlah absolut didapatkan dari masing-masing jenis sel jika nilai relatif (%) dikalikan dengan jumlah leukosit total (sel/ μ l). Hitung jenis leukosit berbeda tergantung umur. Pada anak limfosit lebih banyak dari netrofil segmen, sedang pada orang dewasa kebalikannya. Hitung jenis leukosit juga bervariasi dari satu sediaan hapus ke sediaan lain, dari satu lapangan ke lapangan lain. Kesalahan karena distribusi ini dapat mencapai 15%. Bila pada hitung jenis leukosit, didapatkan eritrosit berinti lebih dari 10 per 100 leukosit, maka jumlah leukosit tiap μ l perlu dikoreksi (Marparung, 2014).

Makin banyak leukosit yang dihitung, makin kecil kesalahan yang terjadi. Hasil hitung jenis berdasarkan 100 sel sebenarnya hanya bermakna jika dalam keadaan normal, yaitu normal jumlah leukosit dan normal morfologinya. Pada keadaan leukositosis jumlah leukosit yang dihitung harus lebih banyak; pada leukositosis antara 10.000–20.000 hitung jenis berdasarkan 200 sel, leukositosis

antara 20.000–50.000 hitung jenis berdasarkan pada 300 sel, dan leukositosis lebih dari 50.000 hitung jenis didasarkan pada 400 sel (Depkes RI, 1992).

Perhitungan jenis sel leukosit dilakukan dengan mengambil sampel darah terlebih dahulu. Sampel darah dapat dikumpulkan dari pembuluh vena mencit, sehingga dapat diambil dari tempat yang berbeda, seperti sinus orbital, ekor, dan vena jugular. Pemilihan metode dan tempat pengambilan darah mencit ditentukan berdasarkan volume darah yang dibutuhkan untuk pemeriksaan menggunakan pisau bedah, tepi pisau cukur, atau gunting yang tajam (Hoff, 2000). Metode perhitungan sel darah dapat dilakukan baik secara manual atau dengan menggunakan penghitung otomatis. Pada penelitian ini pengambilan darah dilakukan dengan memotong ekor mencit 1-2 mm kemudian dibuat sediaan hapus. Perhitungan sel darah putih menggunakan mikroskop cahaya secara manual.

Penelitian ini hanya dilakukan hitung neutrofil dengan sediaan hapus pada masing-masing kelompok hewan uji dengan pengecatan Giemsa. Giemsa adalah zat warna yang terdiri dari eosin dan metilen azur yang memberi warna merah muda pada sitoplasma dan metilen biru yang memberi warna pada inti leukosit. Untuk dapat melakukan hitung jenis leukosit diperlukan preparat apus darah tepi yang baik. Kriteria preparat darah apus yang baik adalah lebar dan panjangnya tidak memenuhi seluruh kaca benda, secara gradual penebalannya berangsur-angsur menipis dari kepala ke ekor, tidak berlubang, tidak terputus-putus, tidak terlalu tebal dan mempunyai pengecatan yang baik (Santosa, 2010). Jumlah neutrofil didapat dengan menghitung setiap 100 sel leukosit dengan menjumlahkan neutrofil batang dan segmen.

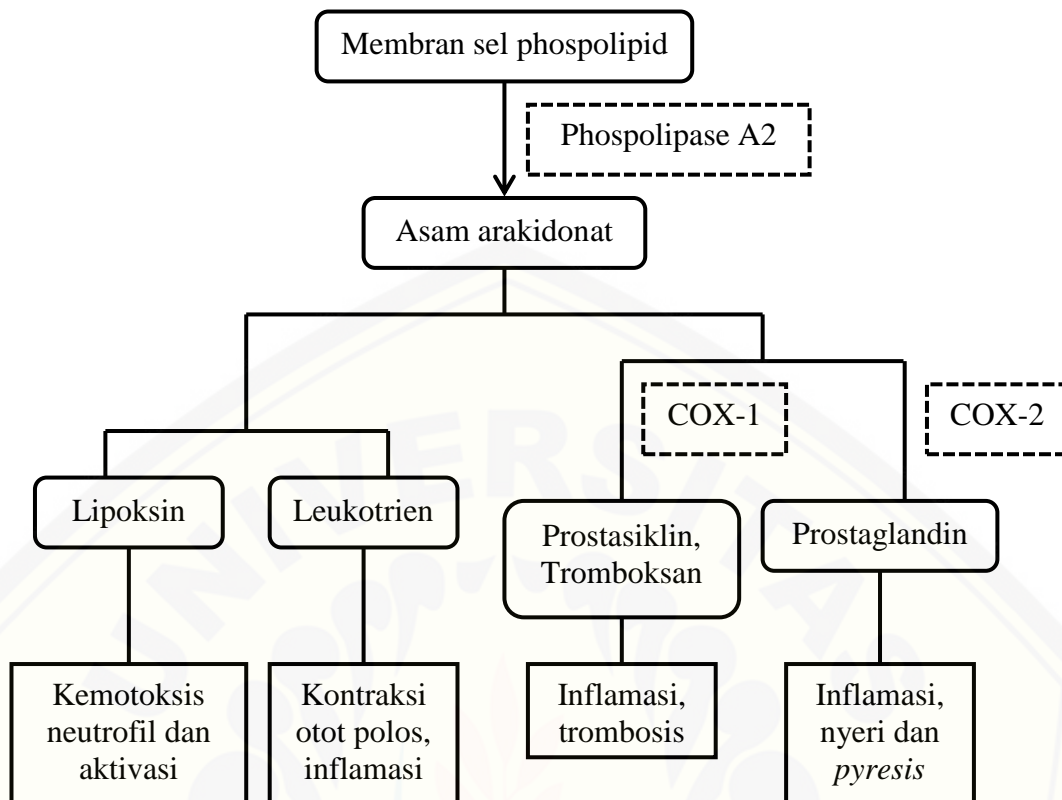
2.4 Tinjauan tentang Obat Anti-inflamasi

Obat antiinflamasi digolongkan menjadi dua yaitu obat antiinflamasi non steroid (AINS) dan obat antiinflamasi steroid. Obat-obat tersebut mempunyai mekanisme yang berbeda dalam mengurangi inflamasi.

2.4.1 Obat Anti Inflamasi Non Steroid (AINS)

Obat golongan AINS adalah kelompok struktural asam organik yang memiliki efek analgesik, antiinflamasi, dan antipiretik. AINS adalah inhibitor enzim siklooksigenase yang dapat menghambat langsung biosintesis prostaglandin dan tromboksan dari asam arakidonat (Soeroso, 2008). Enzim pertama pada pembentukan prostaglandin adalah prostaglandin endoperoksida sintase atau asam lemak siklooksigenase. Enzim ini mengubah asam arakidonat menjadi senyawa antara yang tidak stabil, yaitu PGG₂ dan PGH₂. Telah diketahui bahwa ada dua bentuk siklooksigenase, yaitu siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2). Enzim COX-1 merupakan suatu isoform konstitutif yang terdapat dalam kebanyakan sel dan jaringan normal, sedangkan COX-2 terinduksi saat berkembang peradangan oleh sitokin dan mediator inflamasi, namun COX-1 juga diekspresi secara konstitutif di dalam lambung tetapi COX-2 tidak (Roberts dan Morrow, 2007). Penghambatan COX-2 dianggap bertanggung jawab untuk beberapa sifat analgesik, antiinflamasi, dan antipiretik NSAID. COX-2 juga memiliki fungsi fisiologis yaitu di ginjal, jaringan vaskular, dan pada proses perbaikan jaringan (Soeroso, 2008).

Di mukosa lambung, aktivasi COX-1 menghasilkan prostasiklin yang bersifat sitoprotektif. Tromboksan A₂, yang disintesis dari trombosit oleh COX-1, menyebabkan agregasi trombosit, vasokonstriksi dan proliferasi otot polos. Sebaliknya, prostasiklin (PGI₂) yang disintesis oleh COX-2 di endotel makrovaskular melawan efek tersebut dan menyebabkan penghambatan agregasi trombosit, vasodilatasi dan efek proliferasi. Sebagian besar AINS saat ini tersedia untuk penggunaan klinis menghambat, baik COX-1 dan COX-2, meskipun COX-2 inhibitor selektif seperti celecoxib sekarang tersedia (Katzung *et al.*, 2009). Biosintesis prostaglandin dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Biosintesis Prostaglandin (Tjay dan Rahardja, 2002)

Selain itu AINS tertentu juga dapat menghambat aktivasi dan fungsi neutrofil secara langsung, yaitu dengan menghambat proses yang berkaitan dengan membran, terlepas dari kemampuannya untuk menghambat sintesis prostaglandin. Beberapa AINS juga dapat menghambat adhesi leukosit yang tampaknya terlepas dari kemampuannya menghambat biosintesis prostaglandin (Roberts dan Morrow, 2007). AINS dapat dibagi dalam 2 kelas besar, yaitu nonselektif dan selektif (Koopman dan Moreland, 2004).

AINS digunakan untuk menghilangkan nyeri ringan sampai sedang, kondisi demam ringan, dan untuk gangguan inflamasi akut dan kronis seperti osteoarthritis, *rheumatoid arthritis*, *juvenile idiopathic arthritis*, dan *ankylosing spondylitis*. Beberapa AINS digunakan topikal untuk menghilangkan nyeri otot dan rematik, dan beberapa digunakan dalam sediaan *ophthalmic* untuk gangguan inflamasi okular (Wilmana, 2007; Sweetman, 2009).

Selain menimbulkan efek terapi yang sama AINS juga memiliki efek samping serupa, karena didasari oleh hambatan pada sistem biosintesis prostaglandin. Selain itu, kebanyakan obat bersifat asam sehingga lebih banyak terkumpul dalam sel yang bersifat asam misalnya lambung, ginjal dan jaringan inflamasi. Jelas bahwa efek obat maupun efek sampingnya akan lebih nyata di tempat dengan kadar yang lebih tinggi (Katzung *et al.*, 2009).

Semua AINS umumnya memiliki efek samping yang sama, seperti:

- a. Sistem saraf pusat: sakit kepala, tinnitus, dan pusing
- b. Kardiovaskular: retensi cairan hipertensi, edema, dan gagal jantung kongestif (jarang)
- c. Gastrointestinal: perut nyeri, displasia, mual, muntah, dan bisul atau perdarahan
- d. Hematologi: trombositopenia, neutropenia, atau bahkan anemia aplastik.
- e. Hati: tes fungsi hati abnormal dan gagal hati
- f. Paru: asma
- g. Ruam: semua jenis, pruritus
- h. Ginjal: insufisiensi ginjal, gagal ginjal (Prakash, 2013), hiperkalemia, dan proteinuria (Soeroso, 2008).

2.4.2 Obat Anti-inflamasi Steroid

Obat antiinflamasi steroid merupakan obat golongan glukokortikoid (disebut juga obat-obat golongan kortikosteroid). Kortikosteroid merupakan antiinflamasi yang identik dengan kortisol, hormon steroid alami pada manusia yang disintesis dan disekresi oleh korteks adrenal. Kortikosteroid dibedakan menjadi dua golongan, yaitu glukokortikoid dan mineralokortikoid. Glukokortikoid menghambat terbentuknya leukotrien dan prostaglandin, sehingga sifat antiinflamasinya kuat. Pengaruh glukokortikoid terhadap keseimbangan air dan elektrolit kecil, namun juga memberikan pengaruh terhadap penyimpanan glikogen hepar. Mineralokortikoid lebih berefek pada keseimbangan air dan elektrolit, sedangkan pengaruh glikogen hepar kecil (Katzung, 2009).

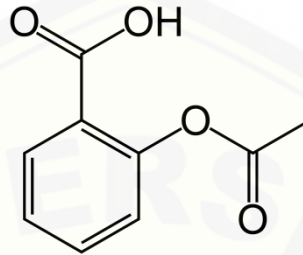
Kortikosteroid menyebabkan hiperglikemia melalui peningkatan glukoneogenesis hati dan penurunan ambilan glukosa oleh jaringan perifer. Kortikosteroid juga menghambat aktivitas osteoblas dan menginduksi apoptosis osteoblas serta osteosit sehingga terjadi osteoporosis. Peningkatan volume plasma terjadi melalui ikatan antara kortikosteroid dengan reseptor pada sel epitel *renal distal tubular*. Ikatan tersebut menyebabkan peningkatan reabsorpsi natrium dan retensi cairan sehingga volume plasma bertambah dan meningkatkan tekanan darah (Sitompul, 2011).

Efek antiinflamasi kortikosteroid mempengaruhi berbagai sel imunokompeten seperti sel T, makrofag, sel dendritik, eosinofil, neutrofil, dan sel mast, yaitu dengan menghambat respon inflamasi dan menyebabkan apoptosis berbagai sel tersebut (Smoak dan Clidowski, 2008). Salah satu protein antiinflamasi yang ditingkatkan sintesisnya oleh kortikosteroid adalah lipokortin-1, suatu inhibitor fosfolipase A₂. Penghambatan lipokortin terhadap fosfolipase A₂ dengan mengganggu pengikatan fosfolipid. Fosfolipase A₂ bekerja mengkatalisis pembentukan asam arakidonat. Rangsangan sintesis lipokortin-1 oleh obat-obat kortikosteroid menyebabkan sintesis asam arakidonat juga terhambat sehingga menghambat pembentukan mediator baik melalui jalur siklooksigenase maupun lipooksigenase. Mekanisme ini menjelaskan mengapa kortikosteroid memiliki aksi yang lebih luas dan lebih poten dibandingkan dengan obat NSAID yang hanya menghambat jalur siklooksigenase. Pada mekanisme itu, obat kortikosteroid memiliki kegunaan terapeutik yang luas (Ikawati, 2008).

2.5 Tinjauan Asam Asetilsalisilat (Asetosal)

Asetosal adalah obat anti-nyeri tertua yang sampai saat ini paling banyak digunakan di seluruh dunia. Asetosal juga berkhasiat sebagai anti-demam kuat dan pada dosis rendah (80 mg) dapat menghambat agregasi trombosit (Tjay dan Rahardja, 2002). Asetosal memiliki efek antitrombosis ireversibel dan disasarkan pada blokade enzim siklooksigenase (COX-1) yang bertahan selama hidupnya trombosit. Dengan demikian, sintesa tromboksan A₂ (TxA₂) yang bersifat trombotis dan vasokonstriktif dihindari (Gunawan, 2009). Pada kondisi inflamasi,

asetosal akan menghambat perlekatan granulosit pada pembuluh yang rusak, mestabilkan membran lisosom, dan menghambat migrasi leukosit polimorfonuklear dan magrofag ketempat peradangan serta menggagalkan sintesa prostaglandin-E (PgE₂) (Katzung, 1998; Tjay dan Rahardja, 2007).



Gambar 2.6 Struktur Kimia Asetosal

Selain merupakan analgetikum, saat ini asetosal banyak digunakan sebagai alternatif dari antikoagulansia untuk pencegah obat infark kedua setelah serangan. Hal ini akibat daya trombotisnya. Asetosal juga efektif untuk profilaksis serangan stroke kedua setelah menderita TIA (*Transient Ischaemic Attack*, serangan kekurangan darah sementara di otak), terutama pada pria. Efek samping yang paling sering terjadi saat menggunakan asetosal berupa gangguan pada lambung (gastritis), perdarahan saluran cerna, muntah, tinusitus, penurunan pendengaran, vertigo, meningkatkan kadar serum asam urat dan hepatitis ringan (Gunawan, 2009).

Penggunaan obat golongan AINS mampu menurunkan perhitungan leukosit, termasuk neutrofil, limfosit, monosit, dan eosinofil (Behal *et al.*, 2009). Obat golongan AINS menunjukkan kemampuan dalam menghambat perlekatan neutrofil, penurunan degranulasi dan produksi antioksidan, menginhibisi aktivitas elastase neutrofil, serta menginduksi apoptosis neutrofil (Wright *et al.*, 2010).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis Penelitian yang dilakukan yaitu *True experimental laboratories*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia bagian Biologi Farmasi, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi bagian Farmasi Klinik dan Komunitas Fakultas Farmasi Universitas Jember dan Laboratorium Analisis Pangan Politeknik Negeri Jember. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2017 hingga selesai.

3.3 Bahan dan Alat Penelitian

3.3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu batang mentigi muda (*Vaccinium varingiaefolium*), etanol 70%, etanol 96%, kloroform, NaCl, karagenin (Sigma), asetosal (Kimia Farma), CMC Na, aquades, metanol, minyak emersi (Olympus), dan giemsa.

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mencit jantan galur Balb-C berumur 2-3 bulan dan beratnya 20-30 gram. Mencit yang digunakan berjumlah 25 ekor diperoleh dari peternak mencit di daerah Malang.

3.3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu seperangkat alat gelas, neraca analitik digital (Ohaus), maserator, *rotary evaporator* (Heldolph-laborata 4000), oven, corong pisah, cawan porselen, mortar dan stemper, oral sonde tikus, *stop watch*, *object glass* dan *deck glass*, mikroskop cahaya (Olympus BX53F), tempat makan dan minum mencit, timbangan mencit (Ohaus) dan *disposable syringe* 1 ml dan 10 ml (OneMed).

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini yaitu variasi dari dosis ekstrak etanol 70% batang mentigi yang diberikan pada masing-masing kelompok mencit, yaitu dosis 400 mg/kgBB, dosis 800 mg/kgBB, dan dosis 1200 mg/kgBB.

3.4.2 Variabel Terikat

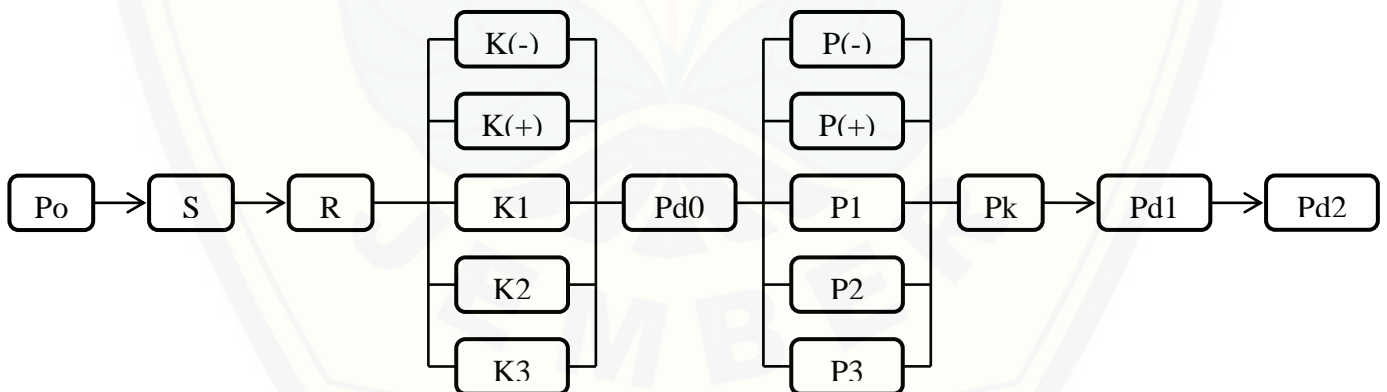
Variabel terikat dari penelitian ini yaitu jumlah dari sel neutrofil.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini yaitu jenis hewan coba, jenis kelamin, umur, berat badan hewan coba, pakan dan minum, serta metode ekstraksi.

3.5 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan *pre and post test control group design*. Secara skematis digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

Keterangan :

- Po : Populasi
- S : Sampel
- R : Randomisasi
- K : Kelompok mencit
- P : Perlakuan
- (-) : Suspensi CMC-Na 0,5%

- (+) : Suspensi asetosal 1% dalam CMC-Na 0,5%
- 1 : Suspensi ekstrak etanol 70% batang mentigi 400 mg/kgBB dalam CMC- Na 0,5%
- 2 : Suspensi ekstrak etanol 70% batang mentigi 800 mg/kgBB dalam CMC-Na 0,5%
- 3 : Suspensi ekstrak etanol 70% batang mentigi 1200 mg/kgBB dalam CMC-Na 0,5%
- Pk : Pemberian suspensi karagenin 1%
- Pd0 : Pengambilan darah pada waktu ke-0
- Pd1 : Pengambilan darah setelah 3 jam diinduksi karagenin
- Pd2 : Pengambilan darah setelah 6 jam diinduksi karagenin

3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah:

- a. Batang mentigi yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari desa Ngadisari, Kabupaten Probolinggo, Jawa Timur dalam bentuk tanaman segar yang dipanen pada bulan Juni 2016 dan telah diidentifikasi oleh UPT Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi Pasuruan. Batang mentigi yang digunakan berasal dari tumbuhan mentigi yang sudah dewasa, ditandai dengan adanya bunga dan buah.
- b. Aktivitas antiinflamasi dapat diketahui melalui jumlah rata-rata neutrofil pada setiap kelompok apusan darah mencit.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Penyiapan Hewan Uji

Seminggu sebelum pengujian, hewan uji diadaptasikan pada kandang yang memiliki ventilasi yang baik dan selalu dijaga kebersihannya. Hewan yang sehat ditandai dengan tidak adanya penurunan dan kenaikan berat badan yang signifikan serta memperlihatkan gerakan yang lincah.

Pada penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Hal ini berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus Federer (Ridwan, 2013) sebagai berikut:

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

Dimana: t adalah jumlah perlakuan

n adalah jumlah pengulangan untuk tiap perlakuan

Pada penelitian ini, jumlah perlakuan adalah 5, maka jumlah pengulangan untuk tiap perlakuan adalah 5, sehingga jumlah minimum tikus yang digunakan dalam tiap kelompok adalah 5 ekor.

3.7.2 Penyiapan Simplisia Uji

Penyiapan simplisia uji meliputi determinasi tumbuhan dan pengumpulan simplisia.

a. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan oleh UPT Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi Pasuruan.

b. Pengumpulan simplisia

Bagian tanaman yang digunakan adalah batang dari mentigi yang didapat dari Desa Ngadisari, Kabupaten Probolinggo, Jawa Timur dalam bentuk tanaman segar. Batang yang didapat kemudian disortasi basah, dicuci, dipotong, diangin-anginkan dan dioven selanjutnya tanaman yang sudah kering dihaluskan.

3.7.3 Pembuatan Ekstrak

a. Ekstraksi Batang Mentigi

Proses ekstraksi batang mentigi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan remaserasi 2 kali. Proses ekstraksi menggunakan perbandingan 1:10 dengan pelarut etanol 70%. Satu kilogram batang mentigi ditimbang dan direndam selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah 24 jam, maserat disaring dan dipisahkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*, setelah itu maserat diuapkan menggunakan oven dengan suhu 50°C. Kemudian, ditimbang berat ekstrak yang diperoleh dan dihitung % Rendemen.

3.7.4 Karakterisasi Ekstrak

a. Penetapan Profil Kromatogram

Sebelum dilakukan penetapan profil kromatogram terlebih dahulu dilakukan hidrolisis ekstrak dengan cara 0,3 gram ekstrak batang mentigi ditambahkan dengan 25 ml metanol dan 0,7 ml HCL 57% kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat. Setelah itu, dilakukan hidrolisis selama 1 jam pada suhu 70 °C, ekstrak yang telah dihidrolisis ditotolkan pada plat silika gel 60 F254, dan dilakukan penjenjuran bejana KLT dengan fase geraknya (etil asetat : asam formiat : air dengan perbandingan 95:2:3, v/v/v). Selanjutnya, dilakukan eluasi pada lempeng KLT plat silika gel 60 F254 untuk memisahkan komponen senyawa yang terkandung dalam batang mentigi. Hasil eluasi dianalisis dengan densitometer untuk pengamatan profil kromatogram (Wagner dan Bladt, 1996 dalam Guendouze *et al.*, 2015).

b. Penetapan Kadar Abu Total

Sebanyak 2-3 g serbuk simplisia dimasukkan dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan dan ditimbang. Bila arang tidak dapat hilang, maka ditambahkan air panas, diaduk, disaring melalui kertas saring bebas abu. Kertas saring dipijarkan beserta sisa penyaringan dalam krus yang sama. Filtrat dimasukkan ke dalam krus, diuapkan, dan dipijarkan hingga bobot tetap. Kadar abu total dihitung terhadap berat simplisia dan dinyatakan dalam % b/b (Depkes RI, 2013).

c. Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total dididihkan dengan 25 ml HCl encer LP selama 5 menit. Bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, dipijarkan dalam krus hingga bobot tetap. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap berat simplisia dan dinyatakan dalam % b/b (Depkes RI, 2013).

d. Penetapan Kadar Sari Larut Air

Sebanyak 5 g serbuk simplisia kering dimasukkan ke dalam labu bersumbat, ditambahkan 100 mL air jenuh kloroform, dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama, dan dibiarkan selama 18 jam. Setelah disaring, filtrat diuapkan 20 mL

hingga kering dalam cawan dangkal beralas datar yang telah dipanaskan 105 °C dan ditara. Sisa filtrat dipanaskan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Kemudian dilakukan perhitungan kadar dalam % sari larut air (Depkes RI, 2013).

e. Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Sebanyak 5 g serbuk simplisia kering dimasukkan ke dalam labu bersumbat, ditambahkan 100 mL etanol P, dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama, dan dibiarkan selama 18 jam. Filtrat disaring cepat untuk menghindarkan penguapan etanol, kemudian 20 mL filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal beralas datar yang telah dipanaskan dalam 105 °C dan ditara. Sisa filtrat dipanaskan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Kemudian dilakukan perhitungan kadar dalam % sari larut etanol (Depkes RI, 2013).

f. Susut Pengerinan

Sebanyak 1-2 g simplisia dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105 °C selama 15 menit dan ditara, diratakan hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5-10 mm. kemudian dimasukkan dalam oven, dibuka tutupnya dan dikeringkan pada suhu 105 °C selama 30 menit, ditimbang hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, botol dibiarkan dalam keadaan tertutup mendingin pada desikator hingga suhu ruang (Depkes RI, 2013).

3.7.5 Penetapan Dosis Hewan Uji

Berdasarkan penelitian Nagulsamy *et al.* (2015), ekstrak aseton dan ekstrak metanol daun dan buah *Vaccinium leschenaultii* pada dosis 400mg/kg diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi dan *antiulcerogeni*. Karenanya, pada penelitian ini dibuat tingkatan dosis menjadi 400 mg/kgBB, 800 mg/kgBB dan 1200 mg/kgBB untuk mengetahui efek inflamasi dari batang mentigi.

3.7.6 Pembuatan Suspensi CMC-Na 0,5%

Ditimbang 500 mg CMC-Na dan ditaburkan dalam 10 mL air hangat (20 kali berat CMC) dan dibiarkan sampai mengembang. Kemudian diaduk sampai terbentuk massa yang kental dan ditambah air sampai 100 ml.

3.7.7 Pembuatan Suspensi Asetosal 1%

Ditimbang 1 gr asetosal, kemudian digerus hingga ukuran partikelnya menjadi lebih kecil dan ditambahkan dengan 100 ml larutan CMC-Na 0,5%.

3.7.8 Pembuatan Suspensi Karagenan 1%

Ditimbang 1 gr karagenan dan disuspensikan dalam 100 ml CMC-Na 0,5%.

3.7.9 Pengujian Aktivitas Antiinflamasi

Mencit diadaptasikan selama 1 minggu sebelum diberi perlakuan, selanjutnya mencit dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok berisi 5 ekor mencit. Delapan belas jam sebelum perlakuan mencit dipuasakan tetapi tetap diberi air (*ad libitum*). Diambil darah pada ekor mencit, dibuat hapusan darah, dan dihitung jumlah neutrofil. Setelah itu mencit diberi perlakuan, yaitu:

- a. Kelompok I (kontrol positif): diberikan suspensi asetosal 1% dengan dosis 0,1 ml/kg/BB mencit p.o
- b. Kelompok II (kontrol negatif): diberikan suspensi CMC-Na 0,5% dengan dosis 0,1 ml/kg/BB mencit p.o
- c. Kelompok III (dosis 400 mg/kg/BB): diberikan suspensi ekstrak etanol 70% batang mentigi dengan dosis 400 mg/kgBB p.o
- d. Kelompok IV (dosis 800 mg/kg/BB): diberikan suspensi ekstrak etanol 70% batang mentigi dengan dosis 800 mg/kgBB p.o
- e. Kelompok V (dosis 1200 mg/kg/BB): diberikan suspensi ekstrak etanol 70% batang mentigi dengan dosis 1200 mg/kgBB p.o

Mencit diberikan suspensi karagenin 1% setelah perlakuan selama 1 jam. Setelah 3 jam dan 6 jam pemberian suspensi karagenin 1%, selanjutnya diambil darah dari ekor mencit, dibuat hapusan darah, dan dihitung jumlah sel neutrofil.

3.7.10 Prosedur Perhitungan Neutrofil

Aktivitas antiinflamasi dapat ditentukan dengan menghitung jenis leukosit yakni neutrofil yang diamati pada sediaan hapus (Aria *et al.*, 2015).

a. Cara Membuat Sediaan Hapus

Cara membuat sediaan hapus yaitu dengan meletakkan satu tetes kecil darah, pada 2-3 mm dari ujung kaca objek. Kaca penghapus diletakkan dengan sudut 30-45 derajat terhadap kaca objek di depan tetes darah kemudian kaca penghapus ditarik ke belakang sehingga menyentuh tetes darah, dan ditunggu sampai darah menyebar pada sudut tersebut. Dengan gerak yang mantap kaca penghapus didorong sehingga terbentuk hapusan darah sepanjang 3-4 cm pada kaca objek. Hapusan darah dibiarkan mengering di udara (Depkes RI, 1992).

b. Cara Mewarnai Sediaan Hapus

Cara mewarnai sediaan hapus yaitu dengan meletakkan sediaan hapus pada dua buah batang di atas bak tempat pewarnaan. Selanjutnya sediaan hapus difiksasi dengan metanol absolut selama 2-3 menit dan kemudian digenangi dengan zat warna Giemsa 5% (dibiarkan selama 20-30 menit). Sediaan hapus dibilas dengan air, mula-mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan zat warna, setelah itu sediaan hapus dibiarkan sampai mengering (Depkes RI, 1992).

c. Pemeriksaan Hitung Neutrofil

Sediaan hapusan darah yang telah diwarnai dan dikeringkan, diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran lensa obyektif 10x, dicari bagian dimana eritrosit tersebar merata. Biasanya terdapat di bagian tipis sediaan. Lensa obyektif diganti dengan pembesaran 40x, kemudian 100x dan sediaan diberi minyak emersi. Tiap sel berinti pada daerah yang dilalui digolongkan dan dicatat sampai genap 100 sel (Depkes RI, 1992). Pada penelitian ini jenis sel leukosit yang dihitung hanya neutrofil (batang dan segmen).

Data-data pengamatan aktivitas antiinflamasi dari ekstrak etanol 70% batang mentigi diperoleh dari mencit jantan galur Balb-C yang diambil sampel darah sebanyak 3 kali yaitu pada saat:

1. Sebelum mencit jantan galur Balb-C diberikan karagenin (t0)

2. Tiga jam setelah mencit jantan galur Balb-C disuntikkan karagenin (t3)

3. Enam jam setelah mencit jantan galur Balb-C disuntikkan karagenin (t6)

Jumlah neutrofil (%) didapat dengan menghitung setiap 100 sel leukosit dengan cara menjumlahkan neutrofil batang dan segmen seperti rumus berikut:

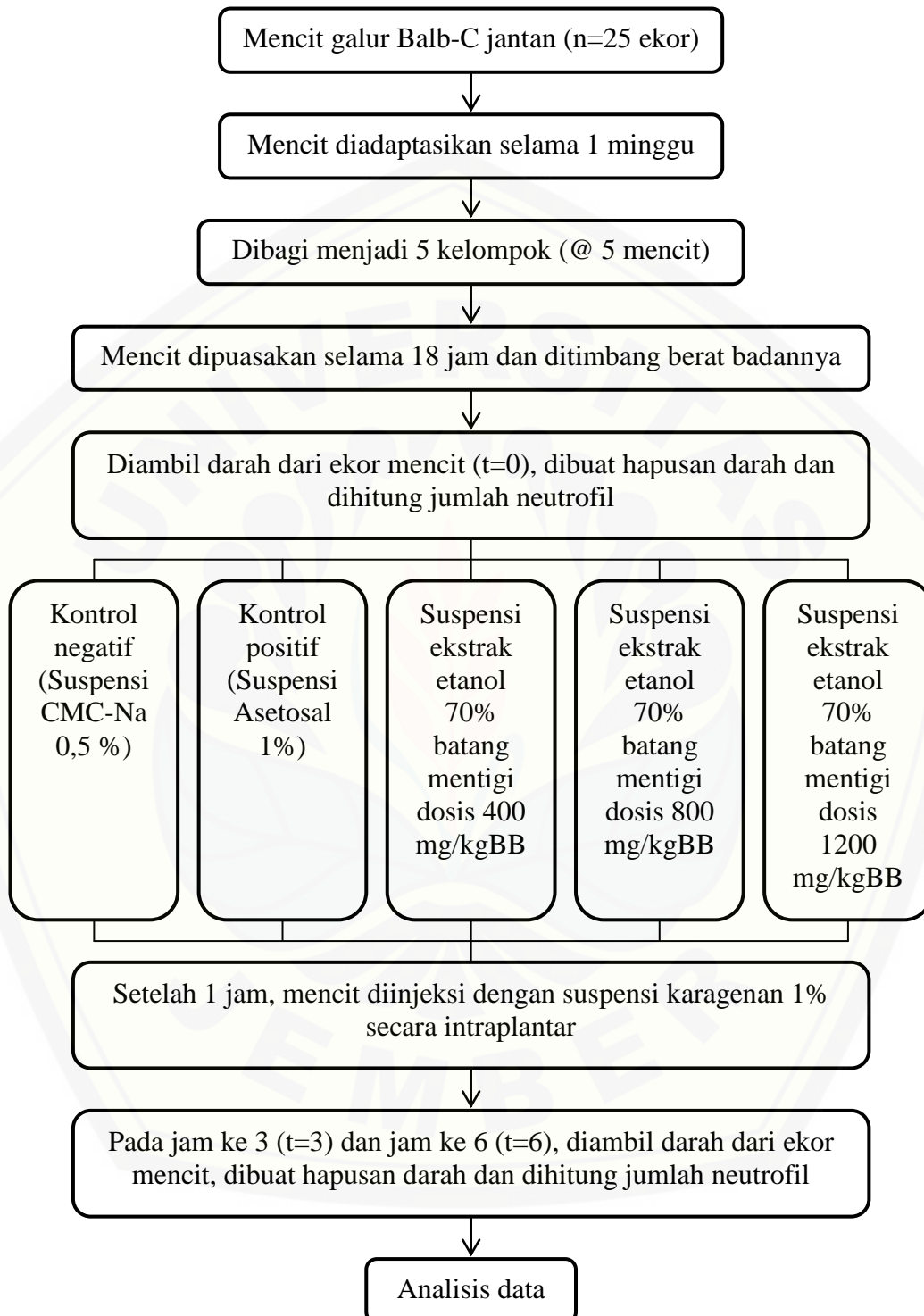
$$\text{Jumlah neutrofil (\%)} = \frac{(\text{neutrofil batang} + \text{neutrofil segmen}) \times 100\%}{100 \text{ sel leukosit}}$$

Dari hasil penelitian yang dilakukan diperoleh data jumlah neutrofil (%) kemudian dijumlah dan dibuat rata-rata pada masing-masing kelompok. Selanjutnya dihitung penurunan jumlah neutrofil pada waktu t3 dan t6 tiap kelompok (t3-t6).

3.8 Analisis Data

Data penurunan jumlah neutrofil t3 dan t6 tiap kelompok tersebut dianalisis statistik menggunakan Anova satu arah dengan melihat uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) dan uji homogenitas (*Levene*) terlebih dahulu. Untuk mengetahui perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan, dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*), sehingga dapat diketahui perbandingan antara *mean* perlakuan yang satu dengan *mean* perlakuan lain. Selanjutnya data diproses, dimana hasil uji statistik dikatakan berbeda bermakna jika $p \leq 0,05$ dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0.05$).

3.9 Skema kerja



Gambar 3.2 Skema kerja

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

- a. Berdasarkan hasil uji statistik diketahui bahwa dosis 1200 mg/kgBB ekstrak etanol 70% batang mentigi merupakan dosis yang paling optimal dibandingkan dosis 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB sebagai antiinflamasi dalam menurunkan jumlah neutrofil mencit yang diinduksi karagenin.
- b. Pada penetapan profi kromatogram diperoleh 7 puncak kromatogram, penetapan kadar abu total sebesar 3,12 %b/b dan kadar abu tidak larut asam sebesar 0,50 %b/b, penetapan kadar sari larut air dan etanol sebesar $0,7729 \pm 0,0083$ %b/b dan $0,9975 \pm 0,0072$ %b/b. Susut pengeringan dari ekstrak etanol 70% batang mentigi sebesar $11,6814 \pm 0,1793$ %b/b.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan peneliti pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

- a. Perlu dilakukan optimasi waktu mengenai penurunan dan peningkatan jumlah neutrofil mencit.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai parameter lainnya pada karakterisasi ekstrak etanol 70% batang mentigi.

DAFTAR PUSTAKA

- Amulic, B., C. Cazalet, G. L. Hayes, K. D. Metzler, A. Zychlinsky. 2012. Neutrophil Function: From Mechanism to Disease. *Annual Review of Immunology*. 30: 459-489.
- Aria, M., Verawati, A. Arel, dan Monika. 2015. Uji Efek Antiinflamasi Fraksi Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* L.) Codd) terhadap Mencit Putih Betina. *Scientia*. 5(2): 84-91.
- Arifin, H., N. Anggraini, D. Handayani, dan R. Rasyid. 2006. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia Cimini* Merr. *J. Sains Tek. Far.* 11(2): 88-93.
- Awang, D. V. C. 2009. *The Therapeutic Use of Phytomedicinals*. Edisi ketiga. Boca Raton: CRC Press.
- Azizah, B., dan N. Salamah. 2013. Standarisasi Parameter Non Spesifik Dan Perbandingan Kadar Kurkumin Ekstrak Etanol dan Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Kunyit. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 3(1): 21-30.
- Baratawidjaja, K.G. dan I. Rengganis. 2010. *Imunologi Dasar*. Edisi 9. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Behal, K., Sharma, dan Sanyal. 2009. Effect of Non-steroidal Antiinflammatory Drug Etoricoxib on the Hematological Parameters and Enzymes of Colon and Kidney. *Nutrition Hospital*. 24(3): 326-332.
- Bujor, O. C., C. L. Bourvellec, I. Volf, V. I. Popa, dan C. Dufour. 2016. Seasonal Variations of The Phenolic Constituents in Bilberry (*Vaccinium Myrtillus* L.) Leaves, Stems and Fruits, and Their Antioxidant Activity. *Food Chemistry*. 213: 58-68.
- Chou, T.C. 2003. Anti-inflammatory and Analgesic Effects of Paeonol in Carrageenan-Evoked Thermal Hyperalgesia. *British Journal of Pharmacology*. 136: 1146-1152.
- Corsini, Paola, Viviani, Genovese, Mazzon, dan Lucchi. 2005. Increased Carrageenan-Induced Acute Lung Inflammation in Old Rats. *Immunology*. 115(2): 63-253.
- Coxon, A., P. Rieu, F. J. Barkalow, S. Askari, A. H. Sharpe, U. H. V. Andrian, M. A. Arnout, T. N. Mayadas. 1996. Novel Role for The $\beta 2$ Integrin CD11b/CD18 in Neutrophil Apoptosis: A Homeostatic Mechanism in Inflammation. *Immunology*. 5: 653-666.

- Cuzick, J., F. Otto, J.A. Baron, P. H. Brown, J. Burn, P. Greenwald, J. Jankowski, C. L. Vecchia, F. Meyskens, H. J. Senn, M. Thun. 2009. Aspirin and Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs for Cancer Prevention an Intrational Consensus Statement. *Oncology*. 10: 501-507.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Indonesia V*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1992. *Petunjuk Pemeriksaan Hematologi*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Esposito, D., A. Chen, M. H. Grace, S. Komarnytsky, M. A. Lila. 2014. Inhibitory Effects of Wild Bluberry Anthocyanins and Other Flavonoids on Biomarkers of Acute and Chronic Inflammation *In Vitro*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1-31.
- Feldman, B. F . 2000. *Veterinary Hematology*. Edisi 5. California: Lippincot William and Wilkins.
- Fitriyani, A., L. Winarti, S. Muslichah, dan Nuri. 2011. Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav) pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*. 16(1): 34-42.
- Forney, C.F., S.K. Javorek, M.A. Jordan, dan S.P.V. Kloet. 2012. Floral Volatile Composition of Four Species of *Vaccinium*. *Botany*. 90(5): 365-371.
- Guendouze, N., K. Madani, M. Chibane, L. B. Makhlof, D. Hauchard, M.Kiendrebeogo, C. Stevigny, N. O. Philippe, P. Duez. 2015. Phenolic Compounds, Antioxidant and Antibacterial Activities of Three Ericaceae from Algeria. *Industrial Crops and Prducts, Elsvier*. 70: 459-466.
- Gunawan. 2009. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Teraupetik Fakultas Kedokteran UI.
- Guyton, A.C. dan J. E. Hall. 2006. *Textbook of Medical Physiology*. Edisi 11. USA: Elsevier Saunders.
- Handayani, W. 2008. *Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi*. Jakarta: Salemba Medika.

- Harris. C. S., A. J. Burt, A. Saleem, P. M. Le, L. C. Martineau, P. S. Haddad, S. A. L. Bennet, J. T. Arnason. 2007. A Single HPLC-PADAPCI/MS Method for The Quantitative Comparison of Phenolic Compounds Found in Leaf, Stem, Root, and Fruit Exsttract of *Vaccinium angustifolium*. *Phytochem Anal.* 18: 161-169.
- Hidayati, N. A., S. Listyawati, dan A. D. Setyawan. 2008. Kandungan Kimia dan Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol *Latana camara* L. pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan. *Bioteknologi.* 5(1): 10-17.
- Hoff, J. 2000. Method of Blood Collection in the Mouse. *Laboratory Animal.* 29(10): 47-53.
- Hoffbrand, V. dan Mehta, A. B. 2005. *Hematology at A Glance*. Edisi 2. USA: Blackwell Publishing Ltd.
- Ikawati, Z. 2008. *Pengantar Farmakologi Molekuler*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Katzung, G. B. 1998. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 6. Jakarta: Selemba Medika.
- Katzung, B. G., S. B. Masters, dan A. J. Trevor. 2009. *Basic and Clinical Pharmacology*. Edisi 11. New York: McGraw-Hill.
- Koopman, W. J., dan L. W. Moreland. 2004. *Therapeutic Approaches in The Rheumatic Diseases, in Arthritis and Allied Condition, A Textbooks of Rheumatology*. Edisi 15. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Kuek, A., B. L. Hazleman, dan A. J. Ostor. 2007. Immune-Mediated Inflammatory Diseases (IMIDs) and Biologic Therapy: A Medical Revolution. *Postgrad Medical Journal.* 83: 60-251.
- Kumar, V., A.K. Abbas, dan J.C. Aster. 2012. *Robbins Basic Pathology*. Edisi 9. Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Luo, H., X.D. Lu, G.E. Wang, Y. F. Li, H. Kurihara, R. R. He. 2014. Anti-Inflammatory Effects of Anthocyanins-Rich Extract from Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) on Croton Oil-Induce Ear Edema and Propioni Bacterium Acnes Plus LPS-Induced Liver Damage in Mice. *International Journal of Sciences and Nutrition.* 65(5): 594-601.
- Marparung, O. P. E. 2014. Efek Ekstrak Metanol dan Ekstrak *n*-Heksana Daun Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Jumlah dan Hitung Jenis Leukosit pada Tikus Wistar Jantan setelah Diinduksi Karagenan. Tidak Diterbitkan.

Tesis. Medan: Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

Martz, F., L. Jaakola, R. J. Titto, dan S. Stark. 2010. Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of Bilberry (*Vaccinium myrtillus*) Leaves in Northern Europe Following Foliar Development and Along Environmental Gradients. *J Chem Ecol.* 36: 1017-1028.

Miguel, M. G. 2011. Anthocyanins: Antioxidant and/or Anti-Inflammatory Activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 1(6): 7-15.

Morris, C. J. 2003. Carageenan-Induced Paw Edema in The Rat and Mouse. In P. G Winyard and D. A. Willoughby (Ed). *Methods in Molecular Biology, Vol. 225: Inflammation Protocols.* Totowa, NJ: Humana Press Inc.

Mohammed, M. S., W. J. A. Osman, E. A. E. Garelnabi, Z. Osman, B. Osman, H. S. Khalid, M. A, Mohamed. 2014. Secondary Metabolites as Antiinflammatory Agents. *The Journal of Phytopharmacology.* 3(4): 275-285.

Muti'ah, R., L. Enggar, S. Winarsih, Soemarko, D. Simamora. 2010. Kombinasi Ekstrak Batang Talikung dan Artemisin Sebagai Obat antimalaria Terhadap Plasmodium Berghei. *Jurnal Kedokteran Brawijaya.* 26(1): 8-13.

Nagulsamy, P., R..Pannusamy, dan P.Thangaraj. 2015. Evaluation of Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antiulcer Properties of *Vaccinium leschenaultii* Wight: A Therapeutic Supplement. *Journal of Food and Drug Analysis.* 1-11.

Nathan, C. 2006. Neutrophils and Immunity Challenges and Opportunities. *Immunology.* 6: 173-182.

Patel, M., Muruganathan, dan, G. K. P. Shivalinge. 2012. *In Vivo* Animal Models in Preclinical Evaluation of AntiInflammatory Activity A Review. *International Journal of Pharmaceutica Research & Allied Sciences.* 1(2): 1-5.

Prakash, P., dan A. A. Gorfe. 2013. Phosphatidylcholine Attenuates Aggregation of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug with Bile Acid. *Biochemistry.* 52: 7461-7469.

Price, S., dan L. M. Wilson. 2006. *Pathophysiology: Clinical Concept of Disease Processes.* Edisi 6. Terjemahan oleh Huriawati Hartanto, Natalia Susi, Pita Wulansari dan Dewi Asih Mahanan. Jakarta: EGC.

- Rathee, P., H. Chaundary, S. Rathee, D. Rathee, V. Kumar, K. Kohli. 2009. Mechanism of Action Of Flavonoids as Antiinflammatory Agent: A Riview. *Inflammation and Allergy-Drug Targets*. 8: 229-235.
- Ridwan, E. 2013. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan. *J Indon Med Assoc*. 63(3): 112-116.
- Riihinen, K., L. Jaakola, S. Karenalampi, dan A. Hohtola. 2008. Organ-Specific Distribution of Phenolic Compounds in Bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and 'Northblue' Blueberry (*Vaccinium corymbosum* x *Vaccinium angustifolium*). *Food Chemistry*. 110: 156-160.
- Roberts, L. J., dan J. D. Morrow. 2007. *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi*. Volume 1. Edisi 10. Terjemahan oleh Tim alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB. Jakarta: EGC.
- Rotelli, A. E., T. G. Dia, A. O. Juarez, et al. 2003. Comparative Study of Flavonoids in Experimental Model of Inflammation. *Pharmalogical Research*. 48: 601-606.
- Rui, L., W. Oing, G. Quing-qi, W. Zhen-yu. 2011. Anthocyanin Composition and Content of The *Vaccinium uliginosum* Berry. *Food Chemistry*. 125: 116-120.
- Sabir, A. 2003. Pemanfaatan Flavonid di Bidang Kedokteran Gigi. *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Jurnal)*. 81-87.
- Sader, M. A. 2010. *Atlas Berwarna Patologi Anatomi*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Sadiyah, E. R., dan R. A. Kodir. 2012. Studi Awal Kandungan Antosianin pada Buah Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiaefolium* Bl. Miq) yang Berpotensi Sebagai SuplemenAntioksidan. *Prosiding*. 3(1): 95-100.
- Saifudin, A., V. Rahayu, dan H. Y. Teruna. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Santosa, B. 2010. Differential Counting Berdasarkan Zona Baca Atas dan Bawah pada Preparat Darah Apus. *Prosiding Seminar Nasional Unimus*. Semarang: Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Seeram, N.P., R. A.Momin., M, G. Nair, L. D. Bourquin. 2001. Cyclooxygenase Inhibitory and Antioxidant Cyaniding Glicosides in Cherries and Berries. *Phytomedicine*. 8: 362-369.

- Sen, S., R. Chakraborty, B. De, T. Ganesh, H. G. R. Debnath. 2010. Analgesic and Antiinflammatory Herbs: A Potential Source of Modern Medicine. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 1(11): 32-44.
- Serafini, M., I. Peluso, dan A. Ragizzini. 2010. Antioxidants and The Immune System Flavonoids as Anti-inflammatory Agents. *Proccedings of The Nutrition Society*. 69: 273-278.
- Serhan, C. N., S. D. Brain, C. D. Backley, D. W. Gilroy, C. Haslett, L. A. J. O'Neill, M. Paretti, A. G. Rossi, J. L. Wallace. 2007. Resolution of Inflammation : State of The Art, Definitions and Term. *The FASEB Journal*. 21: 325-332
- Setiawati P. W. 2008. Studi Makroskopis, Mikroskopis dan Skrining Fitokimia Daun dan Batang *Vaccinium varingiaefolium* Bl. Miq. *Skripsi*. Surabaya: Jurusan Kimia Universitas Airlangga.
- Signore, A. 2013. About Inflammation and Infection. *EJNMMI Research*. 3(8): 1-2.
- Sitompul, R. 2011. Kortikosteroid dalam Tata Laksana Uveitis: Mekanisme Kerja, Aplikasi Klinis, dan Efek Samping. *Journal of Indonesian Medical Association*. 61: 265-269.
- Smoak, K. A. dan J. A. Cidlowski. 2008. Corticosteroid in Uveitis Management: Mechanism of Action, Clinical Application and Side Effects. *Journal of Indonesian Medical Association*. 61: 9-265.
- Soeroso, J. 2008. *Pedoman Penggunaan Obat Antiinflamasi Non Steroid*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Sostres, C., C. J. Gargallo, M. T. Arroyo, C. J. Gargallo, M. T Arroyo, A. Lanas. 2010. Adverse Effect of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs, Aspirin and Coxibs) on Upper Gastrointestinal Tract. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*. 24: 121-132.
- Steenis, C. G. G. J. V. 2006. *Flora Pegunungan Jawa*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Sweetman, S. C. 2009. *Martindale the Complete Drug Reference*. Edisi 36. London: Pharmaceutical Press.
- Tambayong, J. 2000. *Patofisiologi untuk Keperawatan*. Jakarta: EGC.

- Tjay, T. H., dan K. Rahardja. 2007. *Obat-obat Penting: Khasiat, Kegunaan, dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi Keenam. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia.
- Torri, E., M. Lemos, V. Caliari, C. A. L. Kassuya, J. K. Bastos, S. F. Andrade. 2007. Anti-inflammatory and Antinociceptive Properties of Blueberry Extract (*Vaccinium corymbosum*). *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 59: 591-596.
- Utami, E. T., R. A. Kuncoro, I. R. Hutami, F. T. Sari, J. Handajani. 2011. Efek Antiinflamasi Ekstrak Daun Sembukan (*Paederia scandens*) pada Tikus Wistar. *Majalah Obat Tradisional*. 16(2): 95-100.
- Vendrame, S., dan D. Klimis-Zacas. 2015. Anti-inflammatory effect of anthocyanins via modulation of nuclear factor- κ B and mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *Nutrition Reviews*. 73(6): 348-358.
- Vogel, H. G. dan Vogel, W. H. 2002. *Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assay*. Heidelberg: Springer Verlag Berlin.
- Wilmana, P.F. dan S. Gan. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Depok: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Wright, Moots, Bucknall, dan Edwards. 2010. Neutrophil Function in Inflammation and Inflammatory Disease. *Oxford University Press Rheumatology*. 49: 1618-1631.
- Yulyana, A., H. Winamo, dan Kosasih. 2016. Karakterisasi Ekstrak Daun Cantigi (*Vaccinium varingiaefolium* Miq.). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 1(5):276-283

Lampiran A. Perhitungan Rendemen

- a. Berat wadah 1 : 162,62 gram
- Berat wadah + ekstrak : 202,71 gram
- Berat ekstrak : 40,09 gram
- b. Berat wadah 2 : 122,63 gram
- Berat wadah + ekstrak : 171,74 gram
- Berat ekstrak : 49,11 gram
- c. Berat ekstrak keseluruhan : 89,2 gram
- d. Berat serbuk simplisia : 1000 gram

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{8,92 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \end{aligned}$$

Lampiran B. Perhitungan Dosis

- a. Dosis 400 mg/kgBB

$$\begin{aligned} \frac{400 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} &= \frac{x \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \\ &= 8 \text{ mg/ } 0,2 \text{ ml} \\ &= 400 \text{ mg/ } 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

- b. Dosis 800mg/kgBB

$$\begin{aligned} \frac{800 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} &= \frac{x \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \\ &= 16 \text{ mg/ } 0,2 \text{ ml} \\ &= 800 \text{ mg/ } 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

- c. Dosis 1200 mg/kgBB

$$\begin{aligned} \frac{1200 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} &= \frac{x \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \\ &= 24 \text{ mg/ } 0,2 \text{ ml} \\ &= 1200 \text{ mg/ } 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

Lampiran C. Perhitungan kadar sari larut air

- a. Berat ekstrak : Replikasi 1 = 5,0029 gram
 Replikasi 2 = 5,0029 gram
 Replikasi 3 = 5,0028 gram
- b. Berat cawan : 1 = 42,6948 gram
 2 = 39,0622 gram
 3 = 37,8847 gram
- c. Berat cawan + ekstrak: Replikasi 1 = 42,7330 gram
 Replikasi 2 = 39,1012 gram
 Replikasi 3 = 37,9262 gram
- d. Berat ekstrak konstan : Replikasi 1 = 0,0382 gram
 Replikasi 2 = 0,039 gram
 Replikasi 3 = 0,0388 gram

$$\% \text{ Kadar sari larut air} = \frac{\text{Berat ekstrak konstan}}{\text{Berat ekstrak awal}} \times 100\%$$

$$\text{Replikasi 1} = \frac{0,0382 \text{ gram}}{5,0029 \text{ gram}} \times 100\% \\ = 0,7636\%$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{0,039 \text{ gram}}{5,0029 \text{ gram}} \times 100\% \\ = 0,7795\%$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{0,0388 \text{ gram}}{5,0028 \text{ gram}} \times 100\% \\ = 0,7729\%$$

$$\text{Rata-rata} = 0,7729\%$$

$$\text{SD} = \frac{\sqrt{(0,7636 - 0,7729)^2 + (0,7795 - 0,7729)^2 + (0,7757 - 0,7729)^2}}{\sqrt{2}} \\ = 0,0083\%$$

Lampiran D. Perhitungan kadar sari larut etanol

- a. Berat ekstrak : Replikasi 1 = 5,0027 gram
 Replikasi 2 = 5,0026 gram
 Replikasi 3 = 5,0027 gram

- b. Berat cawan : 1 = 35,3249 gram
 2 = 40,5293 gram
 3 = 35,5815 gram

- c. Berat cawan + ekstrak: Replikasi 1 = 35,3751 gram
 Replikasi 2 = 40,5788 gram
 Replikasi 3 = 35,6315 gram

- d. Berat ekstrak konstan : Replikasi 1 = 0,0502 gram
 Replikasi 2 = 0,0495 gram
 Replikasi 3 = 0,05 gram

$$\% \text{ Kadar sari larut etanol} = \frac{\text{Berat ekstrak konstan}}{\text{Berat ekstrak awal}} \times 100\%$$

$$\text{Replikasi 1} = \frac{0,0502 \text{ gram}}{5,0027 \text{ gram}} \times 100\% \\ = 1,0035\%$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{0,0495 \text{ gram}}{5,0026 \text{ gram}} \times 100\% \\ = 0,9895\%$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{0,05 \text{ gram}}{5,0027 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{Rata-rata} = 0,9975\%$$

$$\text{SD} = \frac{\sqrt{(1,0035 - 0,9975)^2 + (0,9895 - 0,9975)^2 + (0,9995 - 0,9975)^2}}{\sqrt{2}} \\ = 0,0072\%$$

Lampiran E. Perhitungan susut pengeringan

- a. Berat botol timbang : Replikasi 1 = 12,5127 gram
 Replikasi 2 = 12,7297 gram
 Replikasi 3 = 12,8492 gram
- b. Berat awal ekstrak : Replikasi 1 = 1,0034 gram
 Replikasi 2 = 1,0046 gram
 Replikasi 3 = 1,0036 gram
- c. Berat botol timbang + ekstrak: Replikasi 1 = 13,3996 gram
 Replikasi 2 = 13,6149 gram
 Replikasi 3 = 13,7298 gram
- d. Berat ekstrak konstan : Replikasi 1 = 0,8869 gram
 Replikasi 2 = 0,8852 gram
 Replikasi 3 = 0,8877 gram

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

Keterangan : A = Bobot sampel sebelum dipanaskan

B = Bobot sampel sesudah dipanaskan

$$\text{Replikasi 1} = \frac{1,0034 - 0,8869}{1,0034} \times 100\%$$

$$= 11,6150\%$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{1,0046 - 0,8852}{1,0046} \times 100\%$$

$$= 11,8853\%$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{1,0036 - 0,8877}{1,0036} \times 100\%$$

$$= 11,5484\%$$

$$\text{Rata-rata} = 11,6814\%$$

$$\text{SD} = \frac{\sqrt{(11,6105 - 11,6814)^2 + (11,8853 - 11,6814)^2 + (11,5484 - 11,6814)^2}}{\sqrt{2}}$$

$$= 0.1793\%$$

Lampiran F. Hasil determinasi tanaman mentigi



LIPI

**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI**

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046 Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0776/IPH.6/HM/VI/2016

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt, NIDN : 0012078401

Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 01 Juni 2016, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume II, tahun 1965, halaman 183 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Vaccinium*
Species : *Vaccinium varingiaefolium* (Bl.) Miq.

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVII, klasifikasinya adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*
Sub-divisio : *Magnoliopsida*
Subclass : *Dillenidae*
Ordo : *Ericales*
Family : *Ericaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 7 Juni 2016
An. Kepala
Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si

Lampiran G. Keterangan persetujuan etik

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
KOMISI ETIK PENELITIAN**
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember
68121 – Email : fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVAL
Nomor : 893 /H25.1.11/KE/2016

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

PENGEMBANGAN METIGI (*Vaccinium varingiaefolium*) SEBAGAI SALAH SATU TUMBUHAN SUKU TENGGER YANG DIGUNAKAN UNTUK JAMU PEGAL LINU


Nama Peneliti Utama : Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt.
Name of the principal investigator

NIP : 198407122008122002

Nama Institusi : Fakultas Farmasi Universitas Jember
Name of institution


Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

02 Agustus 2016


Sriyanti, Sp.PK

Lampiran H. Hasil kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam

Kode dokumen: FR-AUK-064
Revisi : 0



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
 Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember 68101 Telp. (0331)333532-34; Faks. (0331) 333531
 Email: politeknik@polije.ac.id; Laman: WWW.Polije.ac.id

LAPORAN HASIL ANALISA

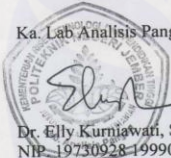
Tanggal terima : Kamis, 29 September 2016
 Tanggal selesai : Rabu, 12 Oktober 2016
 Dikirim oleh : Indah Yulia Ningsih
 Alamat : Fakultas Farmasi
 Jenis sampel : Ekstrak, Batang dan Simplisia Daun, Simplisia Batang Mentigi
 Jenis Analisa : Kadar Abu dan Kadar Abu Tidak Larut Asam

HASIL ANALISA

| No | Jenis Sampel | Kadar Abu (%) | Kadar Abu Tidak Larut Asam (%) |
|----|--------------------------|---------------|--------------------------------|
| 1 | Ekstrak Batang Mentigi | 3,12 | 0,50 |
| 2 | Simplisia Batang Mentigi | 3,45 | 0,69 |


Ket. Hasil analisa tersebut diatas sesuai dengan sampel yang kami terima

Ka. Lab. Analisis Pangan.









Dr. Elly Kurniawati, STp, MP
NIP. 19730928-199903 2 001

Jember, 12 Oktober 2016
Analis



M. Djabir Saing, SE
NIP. 19670512 199203 1 003



ISO 9001:2000

Lampiran I. Perhitungan hitung jenis leukosit

Cara perhitungan hitung jenis leukosit:

1. Penghitungan hitung jenis leukosit dilakukan pada daerah perhitungan, dimulai dari daerah yang tipis bergerak menuju sisi yang tebal lalu pindah sejauh 2-3 lapangan.
2. Dibuat kolom untuk berbagai leukosit dan masing-masing dibagi menjadi 10.
3. Leukosit yang mula-mula terlihat dicatat pada kolom no.1, bila jumlahnya sudah sepuluh pindah mengisi kolom kedua dan seterusnya.
4. Dilakukan penghitungan jumlah leukosit.

| Sel leukosit | Jumlah | | | | | | | | | | % | |
|------------------|--------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | | |
| Basofil | | ↑ | | | | | | | | | | 4 |
| Eosinofil | | | | | | | | | | | | 1 |
| Neutrofil batang | | | | | | | | | | | | 5 |
| Neutrofil segmen | | | | | | | | | | | | 59 |
| Limfosit | | | | | | | | | | | | 27 |
| Monosit | ↓ | | | | | | | | | | | 4 |
| Jumlah | → | → | | | | | | | | | | 100 |

Sumber: Sudiono, *et al.* 2005. *Penuntun Patologi Klinik: Hematologi*. Jakarta: Bagian Patologi Klinik FK UKRIDA.

Lampiran J. Data perhitungan dan analisis data

| Kelompok | Mencit ke- | Jumlah Neutrofil Jam ke- (%) | | | T3-T6 (%) | Rata-rata \pm SD |
|----------|------------|------------------------------|----|----|-----------|--------------------|
| | | 0 | 3 | 6 | | |
| K(-) | 1 | 32 | 63 | 72 | -9 | $-8,8 \pm 1,3$ |
| | 2 | 31 | 69 | 76 | -7 | |
| | 3 | 28 | 55 | 65 | -10 | |
| | 4 | 19 | 56 | 64 | -8 | |
| | 5 | 17 | 70 | 80 | -10 | |
| K(+) | 1 | 29 | 63 | 49 | 14 | $13,4 \pm 1,1$ |
| | 2 | 26 | 60 | 48 | 12 | |
| | 3 | 20 | 74 | 59 | 15 | |
| | 4 | 22 | 74 | 61 | 13 | |
| | 5 | 31 | 64 | 51 | 13 | |
| K1 | 1 | 26 | 55 | 48 | 7 | $8,6 \pm 1,1$ |
| | 2 | 29 | 68 | 58 | 10 | |
| | 3 | 31 | 65 | 56 | 9 | |
| | 4 | 34 | 65 | 57 | 8 | |
| | 5 | 33 | 64 | 55 | 9 | |
| K2 | 1 | 27 | 58 | 47 | 11 | $10,2 \pm 1,3$ |
| | 2 | 29 | 73 | 63 | 10 | |
| | 3 | 30 | 67 | 58 | 9 | |
| | 4 | 18 | 61 | 52 | 9 | |
| | 5 | 31 | 66 | 54 | 12 | |
| K3 | 1 | 25 | 77 | 63 | 14 | $11,8 \pm 1,5$ |
| | 2 | 27 | 71 | 60 | 11 | |
| | 3 | 19 | 73 | 63 | 10 | |
| | 4 | 27 | 66 | 54 | 12 | |
| | 5 | 29 | 72 | 60 | 12 | |

Lampiran K. Hasil uji statistik

- Uji normalitas

Tests of Normality

| Perlakuan | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----------|--------------------|---------------------------------|----|-------------------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Hasil | Kontrol Negatif | .221 | 5 | .200 [*] | .902 | 5 | .421 |
| | Kontrol Positif | .237 | 5 | .200 [*] | .961 | 5 | .814 |
| | Dosis 400 mg/kgBB | .237 | 5 | .200 [*] | .961 | 5 | .814 |
| | Dosis 800 mg/kgBB | .221 | 5 | .200 [*] | .902 | 5 | .421 |
| | Dosis 1200 mg/kgBB | .246 | 5 | .200 [*] | .956 | 5 | .777 |

a. Lilliefors Significance Correction

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

Hasil uji normalitas shapiro-wilk menunjukkan bahwa data penurunan jumlah neutrofil terdistribusi secara normal.

- Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Hasil

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| .087 | 4 | 20 | .985 |

Hasil uji homegenitas menunjukkan bahwa data penurunan jumlah neutrofil homogen.

- Uji anova satu arah

ANOVA

Hasil

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | 1632.160 | 4 | 408.040 | 248.805 | .000 |
| Within Groups | 32.800 | 20 | 1.640 | | |
| Total | 1664.960 | 24 | | | |

Hasil uji anova satu arah diperoleh $p < 0,001$ yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan jumlah neutrofil dengan menggunakan lima macam perlakuan.

- Uji LSD

Post Hoc Tests

| Multiple Comparisons | | | | | | |
|----------------------|--------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| Hasil LSD | | | | | | |
| (I) Perlakuan | (J) Perlakuan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| Kontrol Negatif | Kontrol Positif | -22.200 [*] | .810 | .000 | -23.89 | -20.51 |
| | Dosis 400 mg/kgBB | -17.400 [*] | .810 | .000 | -19.09 | -15.71 |
| | Dosis 800 mg/kgBB | -19.000 [*] | .810 | .000 | -20.69 | -17.31 |
| | Dosis 1200 mg/kgBB | -20.600 [*] | .810 | .000 | -22.29 | -18.91 |
| Kontrol Positif | Kontrol Negatif | 22.200 [*] | .810 | .000 | 20.51 | 23.89 |
| | Dosis 400 mg/kgBB | 4.800 [*] | .810 | .000 | 3.11 | 6.49 |
| | Dosis 800 mg/kgBB | 3.200 [*] | .810 | .001 | 1.51 | 4.89 |
| | Dosis 1200 mg/kgBB | 1.600 | .810 | .062 | -.09 | 3.29 |
| Dosis 400 mg/kgBB | Kontrol Negatif | 17.400 [*] | .810 | .000 | 15.71 | 19.09 |
| | Kontrol Positif | -4.800 [*] | .810 | .000 | -6.49 | -3.11 |
| | Dosis 800 mg/kgBB | -1.600 | .810 | .062 | -3.29 | .09 |
| | Dosis 1200 mg/kgBB | -3.200 [*] | .810 | .001 | -4.89 | -1.51 |
| Dosis 800 mg/kgBB | Kontrol Negatif | 19.000 [*] | .810 | .000 | 17.31 | 20.69 |
| | Kontrol Positif | -3.200 [*] | .810 | .001 | -4.89 | -1.51 |
| | Dosis 400 mg/kgBB | 1.600 | .810 | .062 | -.09 | 3.29 |
| | Dosis 1200 mg/kgBB | -1.600 | .810 | .062 | -3.29 | .09 |
| Dosis 1200 mg/kgBB | Kontrol Negatif | 20.600 [*] | .810 | .000 | 18.91 | 22.29 |
| | Kontrol Positif | -1.600 | .810 | .062 | -3.29 | .09 |
| | Dosis 400 mg/kgBB | 3.200 [*] | .810 | .001 | 1.51 | 4.89 |
| | Dosis 800 mg/kgBB | 1.600 | .810 | .062 | -.09 | 3.29 |

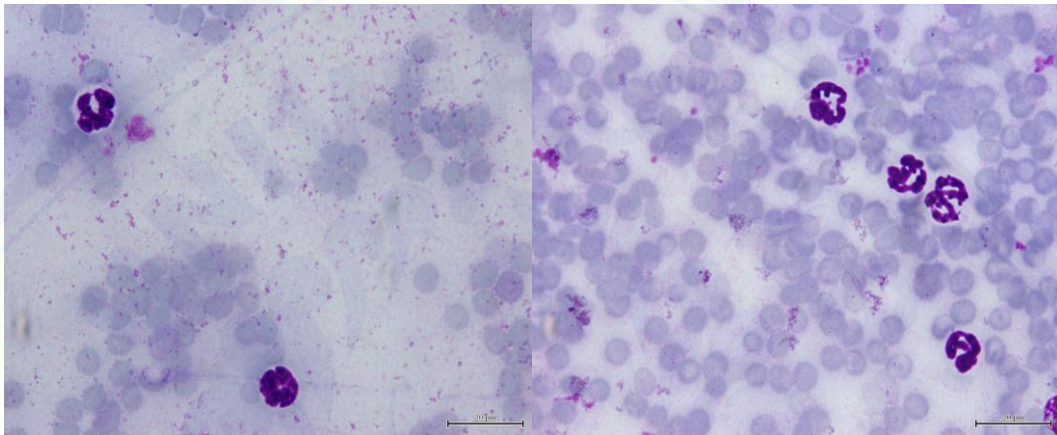
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Berdasarkan hasil uji LSD diketahui bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif serta kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak uji ($p < 0,001$) yang berarti kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak uji memiliki kemampuan dalam menurunkan jumlah neutrofil mencit. Pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak uji hanya dosis 400 mg/kg/BB dengan dosis 1200 mg/kg/BB yang diketahui berbeda signifikan ($p = 0,001$). sedangkan pada kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak uji diketahui hanya dosis

1200mg/kg/BB yang tidak berbeda signifikan (0.0062). hhalini menunjukkan bahwa dosis 1200 mg/kg/BB memiliki kemampuan yang sebanding dalam menurunkan jumlah neutrofil.

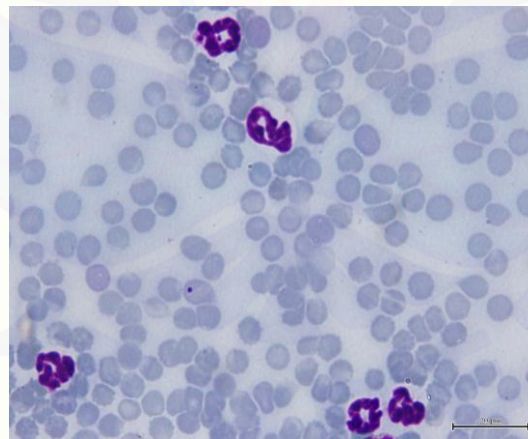
Lampiran L. Dokumentasi

- a. Hapusan darah jam ke-0, jam ke-3, dan jam ke-6 pada kelompok kontrol negatif (CMC-Na)



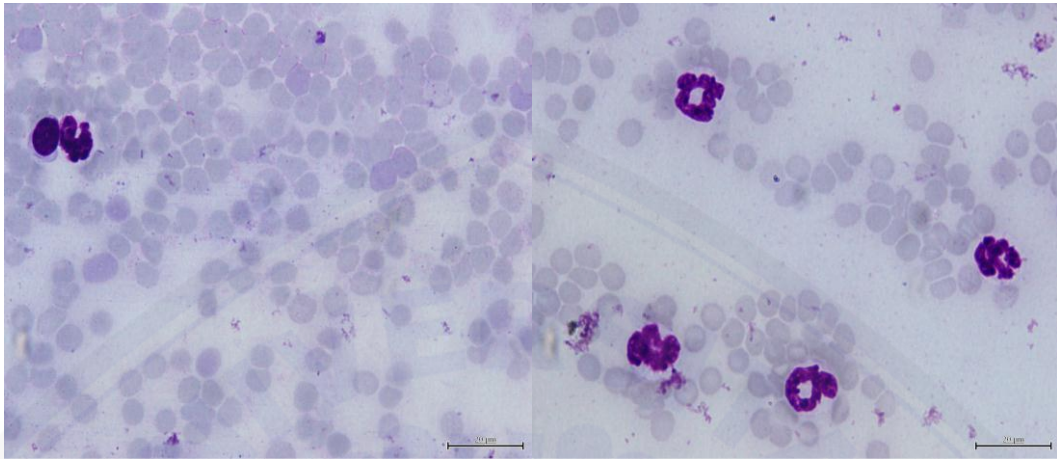
Jam ke-0

Jam ke-3



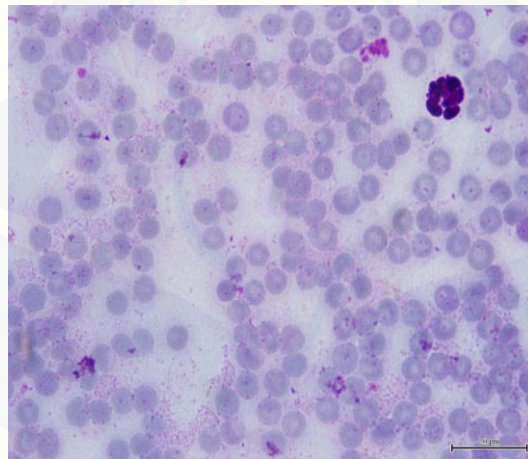
Jam ke-6

- b. Hapusan darah jam ke-0, jam ke-3, dan jam ke-6 pada kelompok kontrol positif



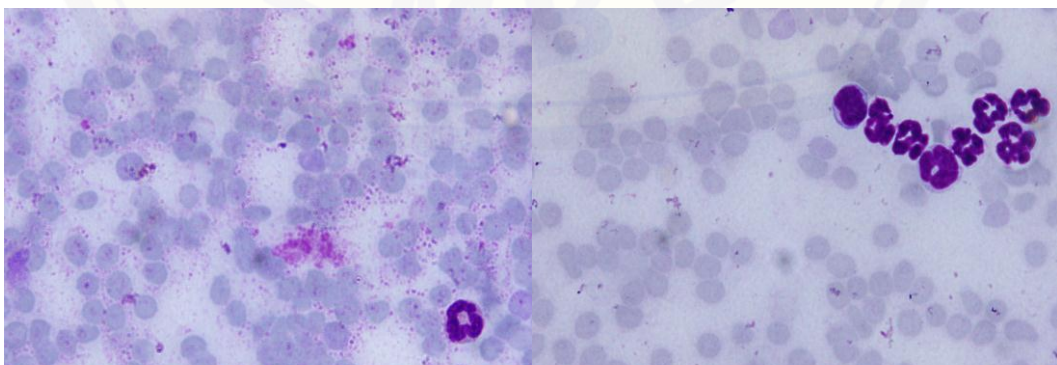
Jam ke-0

Jam ke-3



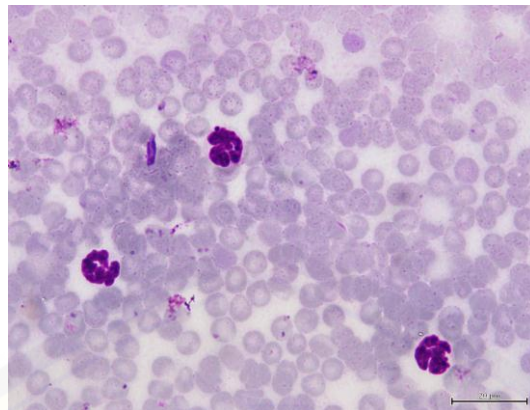
Jam ke-6

- c. Hapusan darah jam ke-0, jam ke-3, dan jam ke-6 pada dosis 400mg/kg/BB



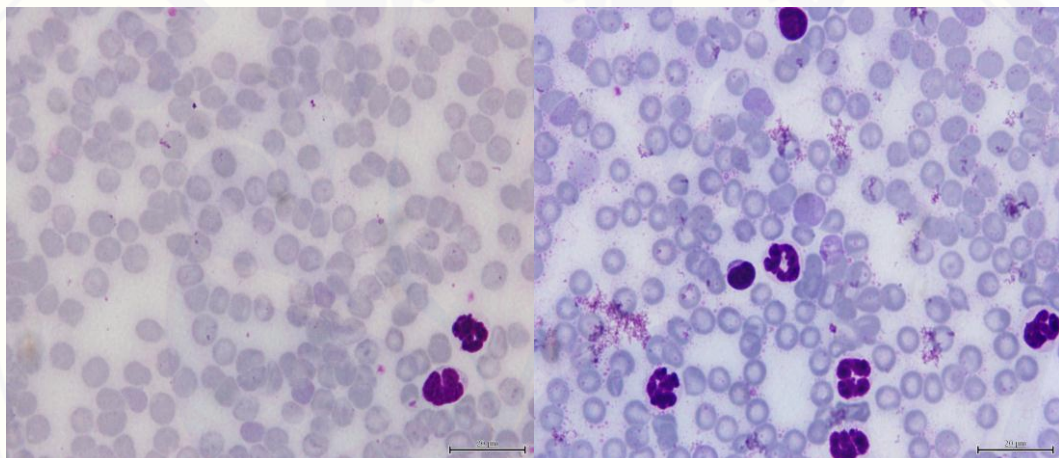
Jam ke-0

Jam ke-3



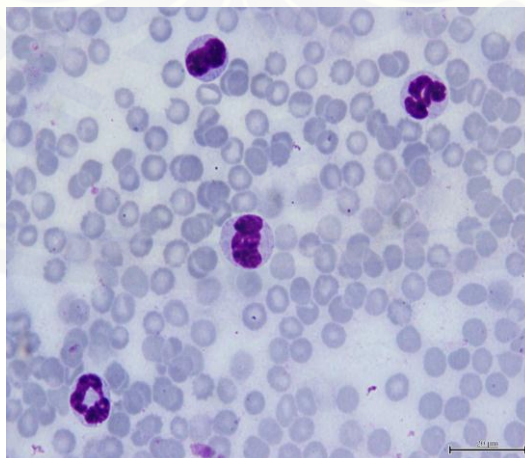
Jam ke-6

- d. Hapusan darah pada jam ke-0, jam ke-3, dan jam ke-6 pada dosis 800 mg/kg/BB



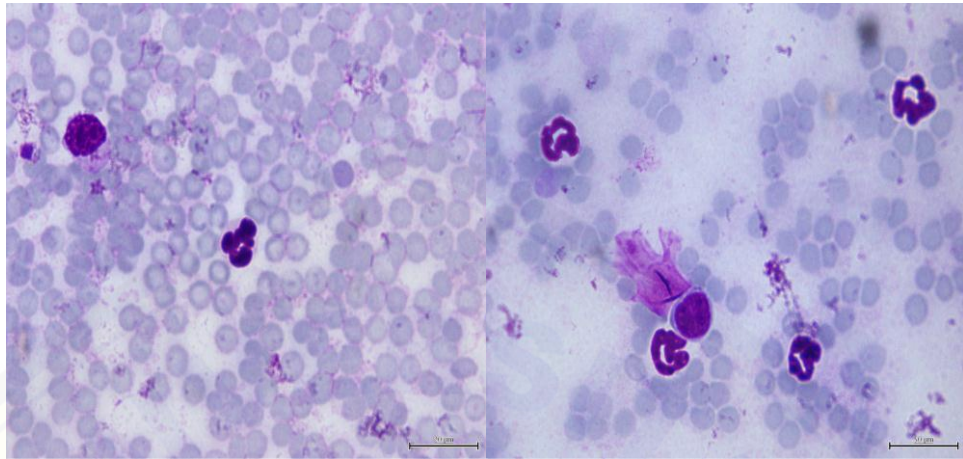
Jam ke-0

Jam ke-3



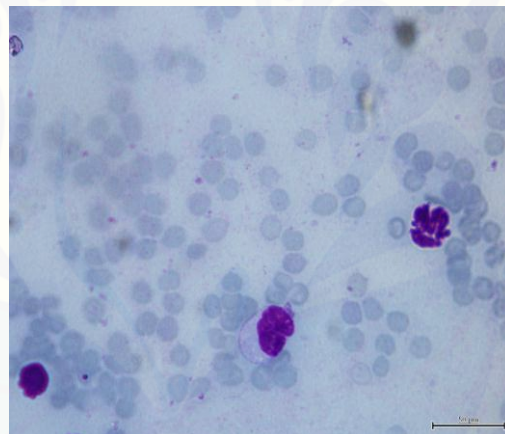
Jam ke-6

- e. Hapusan darah jam ke-0, jam ke-3, dan jam ke-6 pada dosis 1200 mg/kg/BB



Jam ke-0

Jam ke-3



Jam ke-6