

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata* Nees.) TERHADAP JUMLAH
NEUTROFIL**

Study Eksperimental Mencit Balb/c Yang Diinduksi Dengan Prednison

Karya Tulis Ilmiah

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

Untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran



diajukan oleh :

**ILMANIAR PRIHATMA AGUSTIAN
01.206.5209**

**UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
FAKULTAS KEDOKTERAN
SEMARANG
2010**

KARYA TULIS ILMIAH
PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SAMBILOTO
TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL
Studi Eksperimental Pada Mencit Balb/c yang Diinduksi Prednison

Yang dipersiapkan dan disusun oleh
Ilmaniar Prihatma Agustian
01.206.5209

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 29 September 2010
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



dr. H. Iwang Yusuf, M.Si.

Anggota Tim Penguji



dr. Danis Pertiwi, M.Si. Med Sp.PK.

Pembimbing II



dr. Hj. Chodidjah, M.Kes.



dr. H. Joko Wahyu W. M.Kes.

Semarang, September 2010

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



DR.dr.H. Laufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp. And

PRAKATA

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji syukur terhadap Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan judul "Pengaruh Pemberian Ekstrak Sambiloto Terhadap Jumlah Neutrofil (Studi Eksperimental Mencit Balb/C Yang Diinduksi Prednison)" yang disusun guna melengkapi sebagai persyaratan memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Shalawat serta salam penulis haturkan pada junjungan Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat dan para pengikutnya yang senantiasa menegakkan sunahnya.

Penulis menyadari bahwa terdapat banyak keterbatasan yang penulis miliki dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini. Namun berkat bimbingan bantuan dorongan serta do'a dari semua pihak, maka penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. DR. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp. And., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. dr. H. Iwang Yusuf, M.Si, selaku pembimbing I dan dr. Hj. Chodidjah, M.Kes.,selaku pembimbing II yang telah memberikan arahan, bimbingan

serta petunjuk dalam penyusun Karya Tulis Ilmiah ini dengan pengertian dan kesabaran.

3. dr. Danis Pertiwi, M.Si.Med.,Sp.PK dan dr. H. Joko Wahyu W., M.Kes. selaku tim penguji yang telah memberikan arahan, masukan, dan petunjuk dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Ibunda dan Ayahanda, mas Adhis (kakak), mbak Nita (kakak ipar), Wuri (adik) yang tercinta serta keluarga besar atas limpahan do'a yang tulus serta dukungan moral dan materiil selama penyusunan karya tulis ilmiah ini.
5. Agung Danar R, Ibu Endang Supadmi serta kawan dari GALA Siswa atas do'a dan dorongannya.
6. Moh. Habibullah CK, Raditya Bagus, Lugas L Haley, Ranangga S, Jefli Mandala P, Murni S serta sahabat sepenanggungan di Fakultas Kedokteran UNISSULA atas dukungannya.
7. Rekan-rekan sejawat MAPADOKS dan KORWIL 3 PTBMMKI atas semangat untuk tabah sampai akhir.

Harapan penulis semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat Bermanfaat bagi kita semua. Amien.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Semarang, September 2010

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PRAKATA	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
INTISARI	xi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumus Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Sambiloto	
2.1.1. Nama Tanaman	5
2.1.2. Klasifikasi	5
2.1.3. Deskripsi Tanaman	6
2.1.4. Kandungan Kimia	6
2.1.5. Aktivitas Farmakologi	8

2.2. Neutrofil	
2.2.1. Definisi	9
2.2.2. Perkembangan Neutrofil	9
2.2.3. Bentuk Neutrofil	10
2.2.4. Fungsi Neutrofil	12
2.2.5. Aktivasi Neutrofil	13
2.3. Imunomodulator	
2.3.1. Definisi	13
2.3.2. Golongan Imunomodulator	14
2.3.3. Syarat Imunomodulator	15
2.4. Hubungan Prednison Dengan Neutrofil.....	16
2.5. Hubungan Ekstrak Sambiloto dengan Jumlah Neutrofil	17
2.6. Kerangka Teori	19
2.7. Kerangka Konsep.....	20
2.8. Hipotesis	20
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	21
3.2. Variabel dan Definisi Operasional	21
3.3. Populasi dan Sampel	22
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian	24
3.5. Cara Penelitian	25
3.6. Alur Kerja Penelitian	29
3.7. Tempat dan Waktu Penelitian	30
3.8. Analisa Hasil.....	30

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian.....	30
4.2. Pembahasan	33

BAB V SIMPULAN DAN SARAN	38
---------------------------------------	-----------

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Rerata hasil penelitian jumlah neutrofil	31
Tabel 4.2. Hasil Uji Normalitas data	32
Tabel 4.3. Perbandingan antar lima kelompok	33



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Tamanan Sambiloto	6
Gambar 2.6. Kerangka Teori	19
Gambar 2.7. Kerangka Konsep	20



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Lampiran dosis Sambiloto dan Prednison

Lampiran 2. Gambar Hasil Penelitian

Lampiran 3. Hasil Pengolahan Data

Lampiran 4. Surat Keterangan Penelitian

Lampiran 5. Data Hasil Penelitian



INTISARI

Penelitian aktivitas imunostimulan bahan alam sedang dikembangkan. Ekstrak sambiloto adalah salah satu imunostimulan alam yang digunakan sebagai terapi kasus defisiensi imun. Sambiloto dapat meningkatkan jumlah leukosit, jumlah makrofag dan neutrofil dalam fagositosis yang diinduksi *Staphilococcus aureus*. Namun, belum ada penelitian yang mempelajari efek ekstrak sambiloto terhadap jumlah neutrofil pada kasus defisiensi imun. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak sambiloto terhadap jumlah neutrofil mencit Balb/c yang diinduksi prednisone.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *post test control group design* ini menggunakan 25 ekor mencit Balb/c jantan dibagi menjadi 5 kelompok. K-I sebagai control negative (pakan standar dan aquadest) selama 14 hari, K-II diberi pakan standar aquadest dan prednisone sebagai control positif selama 14 hari. K-III diberi pakan standar, aquadest, prednisone dan pemberian ekstrak sambiloto 10%;0,35 ml/35 grBB/hari/ekor selama 14 hari, K-IV diberi pakan standar, aquadest, prednisone dan pemberian ekstrak sambiloto 20%;0,35 ml/35 grBB/hari/ekor selama 14 hari, K-V diberi pakan standar, aquadest, prednisone dan pemberian ekstrak sambiloto 30%;0,35 ml/35 grBB/hari/ekor selama 14 hari.

Hasil pemeriksaan rata-rata jumlah neutrofil didapatkan pada Rerata jumlah neutrofil pada K-I adalah 5134/mm, K-II adalah 2835/mm, K-III adalah 4712/mm, K-IV adalah 5314,6/mm, K-V adalah 5122,2/mm. Kemudian data di uji dengan uji *One Way Anova*, hasilnya bahwa terdapat perbedaan jumlah neutrofil secara bermakna antar berbagai kelompok ($p < 0,05$). Untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antar kelompok dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*, terdapat perbedaan yang bermakna antara K-I dengan K-II, K-II dengan K-III, K-IV dan K-V.

Kesimpulan penelitian ini, ekstrak sambiloto dapat meningkatkan jumlah neutrofil mencit balb/c yang diinduksi prednison.

Kata kunci: Ekstrak sambiloto, jumlah neutrofil, prednison

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penelitian aktivitas imunostimulan dari bahan alam sedang dikembangkan (Sigit, 1996). Tanaman Sambiloto merupakan salah satu bahan obat imunostimulan tradisional semakin banyak diteliti (Ivan, 2003). Uji khasiat tanaman sambiloto secara *in vitro* antara lain sebagai antipiretika, antidiabetes, antimalaria, antibakteri, antiparasit, aktivitas imunodulator (Imunostimulan), antiandrogenik dan antispermatogenik, serta melindungi kerusakan hati dan jantung yang bersifat reversibel (Nuratmi *et al*, 1996). Penelitian yang dilakukan oleh Sutardji *et al* (1990) membuktikan sambiloto menyebabkan stimulasi respon imun humoral dan selular serta stimulasi sistem fagositosis. Daun sambiloto dapat meningkatkan jumlah leukosit, jumlah makrofag dan neutrofil dalam fagositosis yang diinduksi *Staphylococcus aureus* (Sidna, 2003). Namun, belum ada penelitian yang membuktikan efek ekstrak daun sambiloto terhadap jumlah neutrofil yang diinduksi prednison.

Neutrofil merupakan salah satu sel target imunostimulan yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh. Neutrofil merupakan 60%-70% dari jumlah leukosit yang beredar dalam sirkulasi darah. Jumlah sel neutrofil dipengaruhi oleh sitokin yang berperan dalam pembentukan serta maturasi (pematangan) sel neutrofil antara lain IL-1, IL-2 dan TNF (Sylvia, 2006).

Pembentukan neutrofil terjadi berawal dari produksi IL-2 merangsang sel T untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel Th1. Th1 mengeluarkan sitokin berupa IFN- γ , TNF (Abbas *et al*,2000). Dimana IFN- γ merangsang aktivasi makrofag. Makrofag yang teraktivasi mengeluarkan sitokin yaitu IL-1 dan merangsang GM-CFU (Granular Monosit- Colony Factor Unit) supaya terjadi granulopiesis serta mengeluarkan neutrofil dalam sumsum tulang menuju intravaskular. (Bratawidjaja, 2004). TNF menginduksi produksi IL-1 dan selanjutnya merangsang produksi IL-6 untuk mengaktifkan progenitor di sumsum tulang untuk memproduksi neutrofil (Robbins, 2007).

Aktifitas prednisone dalam menghambat respon imun diantaranya hambatan terhadap proses presentasi antigen, hambatan produksi IL-1 dan interferon gamma bahkan beberapa reseptor terhadap sitokin (Lanza *et al*, 1996) Dengan menghambat sintesis dan pelepasan IL-1 yang menyebabkan hambatan terhadap induksi sel limfosit T CD4⁺ untuk mensintesis IL-2 (Stite *et al*,1997). Sehingga menghambat terjadinya proliferasi sel T untuk memproduksi sitokin yang berperan dalam pembentukan granulopiesis. Akibatnya terjadi penurunan produksi neutrofil dan sel leukosit yang lainya.

Untuk mengetahui pengaruh tanaman obat dapat dilihat dari aspek imunomodulasi (Dijk, 1994). Imunostimulan dari sitokin hingga zat bioaktif dari alam digunakan sebagai terapi (Zakiudin, 2002).Tanaman sambiloto adalah tanaman yang mempunyai banyak kegunaannya mulai dari daun hingga akar bekhasiat meningkatkan daya tahan tubuh (Ivan,

2003). Daun tanaman sambiloto mempunyai kandungan zat aktif yaitu andrografolid dimana menstimulasi dan meningkatkan proliferasi limfosit dan produksi IL-2 juga meningkatkan produksi TNF α (Nuratmi *et al*, 1996).

Berdasarkan hal tersebut diatas, maka perlu dilakukan penelitian pengaruh ekstrak daun sambiloto terhadap jumlah neutrofil mencit Balb/c yang diinduksi dengan prednison.

1.2. Rumusan Penelitian

Dari uraian yang disampaikan diatas dapat dirumuskan: “Apakah terdapat pengaruh ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap jumlah neutrofil mencit Balb/c yang diinduksi oleh prednison?”.

1.3. Tujuan

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap jumlah neutrofil mencit Balb/c yang diinduksi prednison.

1.3.2. Tujuan Khusus.

- 1.3.2.1. Untuk mengetahui rerata jumlah neutrofil pada mencit Balb/c pada berbagai kelompok perlakuan.
- 1.3.2.2. Untuk mengetahui perbedaan jumlah sel neutrofil antara berbagai kelompok perlakuan.

- 1.3.2.3. Mengetahui perbedaan jumlah sel neutrofil pada mice balb/c yang mendapat pemberian ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) berbagai konsentrasi.

1.4. Manfaat Penelitian.

Dapat digunakan sebagai informasi mengenai obat-obatan tradisional yang bisa digunakan untuk kepentingan sehari-hari

Sebagai tambahan ilmu untuk meningkatkan ilmu pengetahuan yang sesuai dengan profesi sebagai tenaga medis

Sebagai bahan masukan dan referensi tentang manfaat ekstrak sambiloto yang dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut.



BAB II

TINJAUAN PUSAKA

2.1. Sambiloto

2.1.1. Nama Tanaman

Sambiloto memiliki nama lokal yang berbeda-beda *ki oray*, *ki peurat*, *takilo* (Sunda), *bidara*, *sadilata*, *sambiloto*, *takila* (Jawa), *pepaitan* (Sumatera), *chuan xin liang*, *yi jian xi*, *lan he lian* (China), *xuyen tam lien*, *cong-cong* (Vietnam), *kirata*, *mahititka* (India/Pakistan), *creat*, *green chiretta*, *halviva*, *kariyat* (Inggris) (Anonim, 2002).

2.1.2. Klasifikasi

Secara taksonomi Sambiloto dklasifikasikan kedalam:

Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Subkelas : Gamopetalae
Ordo : Personales
Famili : Acanthaceae
Subfamili : Achantoidae
Genus : Andrographis
Spesies : Andrographis paniculata

(Yusron *et al*, 2005)

2.1.3. Deskripsi Tanaman



Gambar 2.1. Tanaman Sambiloto

Sambiloto tumbuh liar di tempat terbuka seperti kebun, tepi sungai, tanah kosong atau di pekarangan. Merupakan terna semusim, tumbuh sampai ketinggian 700 dpl, tinggi 50-90 cm. Batang kuadrangularis berdaun tunggal, letak berhadapan bersilangan dengan ujung dan pangkal meruncing. Bunganya keluar dari ketiak daun, kecil-kecil berwarna putih dengan noda ungu serta buah kapsul berbentuk jorong (Anonim, 2002).

2.1.4. Kandungan Kimia

Sambiloto mengandung diterpen lakton yang meliputi andrografolid, deoksiandrografolid, 14 deoksi - 11, 12 - didehidroandrografolid, homoandrografolid, neoandrografolid, andrografisid, deoksiandrografisid, dan andropanosid. Selain itu juga terdapat flavonoid, alkane, keton, aldehid, mineral (kalium, kalsium, natrium), asam kersik, dan damar. Flavonoid diisolasi terbanyak dari akar (Depkes RI, 1983).

Andrografolid merupakan suatu metabolit sekunder yang memberikan efek farmakologi berupa hepatoprotektif, antiviral dan antikanker. Zat andrografolid dapat menghambat perkembang biakan (proliferasi) berbagai sel tumor yang mewakili berbagai tipe kanker secara in vitro, dengan cara langsung beraktivitas pada sel kanker dengan menahahn siklus sel pada fase G0/G1 melalui induksi penghambatan siklus sel protein p27 dan mengurangi aktivitas cyclin-dependent kinase 4 (CDK 4). Aktivitas imunostimulan andrographolide di tunjukan oleh peningkatan proliferasi limfosit dan produksi interleukin 2. disamping itu andrografolide juga meningkatkan produksi Tumor Nekrosis Factor-alfa (TNF- α) (Anonim, 2009).

Zat andrografolid pada sambiloto juga mampu menghambat enzim yang mendorong pemindahan fosfat molekul penyimpanan energi sel pada transmisi virus. Dalam daur sel, fosfat diubah secara kimiawi sehingga menghasilkan energi. Energi inilah yang dipergunakan untuk mengatur daur sel dan bereproduksi. Ekstrak sambiloto mengganggu enzim yang mendukung reproduksi virus (Vidia, 2009).

2.1.5. Aktivitas Farmakologi

Zat aktif andrografolid terbukti berkhasiat sebagai hepatoprotektor (melindungi sel hati dari zat toksik). Efek farmakologis dan hasil penelitian :

1. Herbal ini berkhasiat bakteriostatik pada *S. Aereus*, *P. Aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Shigella dysentri*, *E. Coli*.
2. Andrografolid menurunkan demam yang ditimbulkan oleh pemberian vaksin yang menyebabkan panas pada kelinci.
3. Andrografolid dapat mengakhiri kehamilan, dan pertumbuhan trofosit plasenta (iriani, 2006)
4. Dari segi farmakologi, sambiloto memiliki efek muskarinik pada pembuluh darah, efek pada jantung iskemik, efek pada respirasi sel, sifat kholeretik, antiinflamasi, dan antibakteri.
5. Komponen aktifnya seperti neoandrografolid, andrografolid, deoaksiandrografolid, dan 14 deoksi – 11, 12 – didehidroandrografolid berkhasiat antiradang dan antipiretik (Nuratmi *et al*, 1996).
6. Pemberian rebusan daun sambiloto 40% sebanyak 20 mg/kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (W. Sugiyanto, Fak. Farmasi UGM, 1978)
7. Fraksi etanol herbal sambiloto mempunyai efek antihistaminergik (Anna setiadi Ranti jurusan farmasi FMIPA ITB)
(Anonim, 2006)

2.2. Netrofil

2.2.1. Definisi

Neutrofil merupakan 60%-70% dari jumlah leukosit yang beredar dalam sirkulasi, juga dapat ditemukan di luar sirkulasi oleh karena dapat keluar dari pembuluh darah. Netrofil berperan bersama makorag sebagai pertahanan tubuh terhadap inflamasi akut oleh agen mikroorganisme. Menunjukkan aktifitas fagositosis dan sitotoksik, bermigrasi ke tempat inflamasi dan infeksi atas pengaruh kemotaksis (Bratawidjaja, 2004).

2.2.2. Perkembangan Netrofil

Neutrofil berasal dari stem cell pluripoten, yaitu suatu sel induk tipe tunggal di dalam sumsum tulang. Sel tersebut dapat menghasilkan semua tipe sel darah. Sel-sel ini berploriferasi dari satu turunan sel yang akan menjadi limfosit (sel limfoid), dan turunan yang lain akan membentuk sel mieloid yang tetap berkembang di sumsum tulang. Stem sel mieloid menjadi progenitor untuk berkembangnya granulosit, monosit, eritrosit dan megakariosit. Kedua tipe sel induk ini diebut stem cell multipoten (juqueira *et al*,1997).

Didalam sumsum tulang stem sel pluripoten akan dirangsang oleh Stem Cell Factor (SCF) untuk menjadi stem sel multipoten mieloid kemudian IL-3, GM-CSF (Granulosit-Monosit-colony-stimulating factor), G-CSF (Granulosit-colony stimulating factor) dan SCF akan mempromosikan stem sel mieloid untuk menjadi prekursor mielosit

neutrofilik (Roitt *et al*, 2001). Faktor-faktor pertumbuhan tersebut merangsang terjadinya proliferasi diferensiasi, dan memengaruhi fungsi sel matur tempat faktor itu bekerja. Dalam proses maturasi sel neutrofil terjadi pematangan inti sel lebih lanjut dan meningkatnya kandungan granula spesifiknya. Granula neutrofilik menunjukkan suatu tahap pertengahan dimana inti sel memiliki bentuk batang yang melengkung dan berlobus (Hoffbrand,2002)

Granulosit dan monosit dalam darah dibentuk dalam sumsum tulang dari suatu sel precursor yang sama. Dalam seri granulopoietik sel progenitor, mieloblas, promielosit dan mielosit membentuk sekumpulan pool sel mitotic atau proliferasi, sedangkan metamielosit, granulosit batang dan segmen membentuk kompartemen pasca-mitosis. Sejumlah besar netrofil batang dan segmen di tahan dalam sumsum tulang sebagai “pool persediaan” atau kompartemen penyimpanan. Dalam aliran darah terdapat 2 kelompok yang biasanya berukuran hampir sama; kelompok yang bersirkulasi/ circulating pool (termasuk dalam hitung darah) dan kelompok yang di tepi/ marginating pool (tidak termasuk dalam hitung darah. Netrofil rata2 menghabiskan waktu 4-5 hari dalam jaringan sebelum di rusak (Hoffbrand, 2002).



Gambar 2.1. Perkembangan Netrofil (Hoffbrand, 2002)

2.2.3. Bentuk Netrofil

Bentuk dari netrofil segmen (matur) kecil, bulat, diameter 12-15 μm , dengan sebuah inti terdiri atas 2-5 lobus (biasanya 3 lobus) yang berikatan melalui benang kromatin halus sedangkan netrofil batang (imatur) memiliki inti tanpa segmen dalam bentuk tapal kuda. Netrofil dengan lebih dari 5 lobus disebut hipersegmen dan secara khas merupakan sel tua meskipun dalam keadaan normal pematangan inti sel bersamaan dengan penambahan jumlah lobus, hubungan ini tidak mutlak (Junqueira et al,1997).

Netrofil mempunyai sitoplasma yang mengandung 2 granula. Granula yang lebih banyak disebut granula spesifik, yang merupakan granula-granula kecil yang memperlihatkan berbagai bentuk dan mengandung laktoferin dan lisozim. Populasi granula kedua dalam

netrofil terdiri atas granula azurofilik bergaris tengah lebih kurang $0,5 \mu\text{m}$ mengandung lisosom, asam hidrolase, mieloperoksidase dan neutromidase. Netrofil juga mengandung glikogen di dalam sitoplasma (Bratawidjaja, 2004).

2.2.4. Fungsi Netrofil

Fungsi netrofil adalah sebagai fagosit dan sitotoksik (Bratawidjaja, 2004). Menurut Sylva dan Wilson (1997), netrofil mempunyai beberapa fungsi utama yakni sebagai respon terhadap imflamasi akut dan infeksi, netrofil meninggalkan kelompok marginatum dan memsuki daerah infeksi atau imflamasi; sumsum tulang melepaskan sumber cadangan. Karena permintaan yang meningkat maka dilepaskan juga netrofil bentuk imatur (batang) memasuki sirkulasi sehingga peningkatan jumlah leukosit dalam darah melebihi $10.000/\text{mm}^3$ (Robbins, 2007).

Pada proses inflamasi terdapat ledakan kebutuhan oksigen, yang mengarah kepada pembentukan anion superoksida dan hydrogen peroksida yang merupakan radikal bebas yang berusia pendek dibentuk dengan menghilangkan satu elektron dari (O^2). Superoksida (O^{2-}) merupakan suatu radikal yang sangat reaktif membunuh mikroorganisme. Lisosom pada netrofil mempunyai fungsi untuk secara spesifik memutuskan ikatan dalam peptidoglikan yang membentuk dinding sel beberapa bakteri positif-negatif, sehingga bakteri mati (Junqueira, 1997).

2.2.5. Aktivasi Netrofil

Peningkatan netrofil adalah bagian dari efek sistemik selain panas dan protein fase akut. Mediator tersebut berasal dari aktivasi komplemen, system koagulasi, sel-sel inflamasi dan sel endotel yang ikut serta dalam kejadian ini masing-masing melepaskan mediator (Bratawidjaja, 2006). Sitokin IL-1, IL-6 dan TNF merupakan mediator atau faktor pertumbuhan yang penting bagi neutrofil (Robbins, 2007). Pada inflamasi akut, netrofil dalam sirkulasi dapat meningkat dengan segera dari 5.000/ μ l sampai 30.000/ μ l. Peningkatan tersebut disebabkan oleh migrasi sel netrofil yang berasal dari sumsum tulang dan persediaan di marginating pool intravascular (Bratawidjaja, 2006). Makrofag juga melepaskan IL-1 dan GM-CSF yang akan mengaktifkan respon fase akut serta meningkatkan produksi netrofil dan monosit oleh sumsum tulang. Atas pengaruh IL-1, TNF dan endotoksin, netrofil dari sumsum tulang dikerahkan menuju sirkulasi (Daniel *et al*, 1997).

2.3. Imunomodulator

2.3.1. Definisi

Imunomodulator adalah senyawa tertentu yang dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non spesifik. Yang terutama terjadi adalah induksi non spesifik baik mekanisme seluler maupun humoral. Pertahanan non spesifik terhadap antigen ini disebut paraimunitas, dan zat bersangkutan disebut penginduksi paraimunitas.

Inductor semacam ini biasanya tidak atau sedikit sekali kerja antigennya, malahan sbagian bekerja sebagai mitogen yaitu menaikkan proliferasi sel yang berpean pada imunitas. Sel tujuan adalah makrofag, neutrofil, eosinofil, basofil dan limfosit; karena induktor paraimunitas ini terutama menstimulasi mekanisme pertahanan seluler. Mitogen ini dapat bekerja langsung mauun tidak langsung (misalnya melalui system komplemen atau limfosit, melalui produksi interferon atau enzim lisosomal) (Widianto,1987).

Imunomodulator adalah bahan modifikasi biologi yang dapat berefek pada respon imun atau bahan farmakologi atau efek terapi yang dapat menstimulasi respon imun (Stite *et al*, 1997).

2.3.2. Golongan Imunomodulator

Menurut Hargono (1996) pengaruh imunomodulator bagi derajat imunitas dapat bersifat:

1. meningkatkan (menstimulasi), obatnya disebut imunostimulator
2. Menurunkan (supresi), obatnya disebut immunosupresor
3. immunosertorator yaitu obat yang dapat mengembalikan system imunitas yang terganggu.

Menurut Stite *et al* (1997) imunomodulator terdiri dar banyak bahan yang secara garis besar dapat dikategorikan tiga macan yakni:

1. bahan derivat bakteri yaitu bahan dari bakteri yang dapat digunakan imunostimulan.
2. bahan derivat dari organisme eukariotik seperti hormone timus, sitokin, dan monoclonal antibody. Sitokin adalah protein atau glikoprotein yang dapat memberikan efek endokrin yang terdiri dari interferon, interleukin, dan *colony stimulating factor*.
3. Bahan biokimia yakni obat sintesis imunostimulan seperti levamisole dan imidathiazole.

2.3.3. Syarat Imunomodulator

Menurut Zakiudin (2002) Syarat imunomodulator yang baik adalah :

1. Zat tersebut harus dapat memodifikasi respon imun pejamu bukan hanya berefek pada mikroorganismenya saja.
2. Zat tersebut harus mempunyai efek samping minimal dan bebas dari zat yang berbahaya.
3. Imunomodulator yang baik juga harus bebas dari efek sensitasi bila zat yang digunakan bersifat alergenik dan bebas dari efek inhibisi system imun pada pemberian jangka panjang atau berulang.

4. Harus ada data yang lengkap mengenai imunofarmakologinya agar dapat sesuai indikasi.
5. Tidak mengandung endotoksin agar dapat diteliti efek imunomodulatornya.

2.4. Hubungan Prednison dengan Neutrofil.

Prednison adalah salah satu glukokortikoid sintesis dengan kerja singkat hingga sedang. Obat ini dapat menyebabkan efek anti inflamasi dan immunosupresif mulai dari pengaruh terhadap leukosit perifer hingga efek supresif terhadap sitokin (Katzung, 1997)

Penelitian menunjukkan glukokortikoid menyebabkan penurunan jumlah limfosit, monosit, basofil dan neutrofil. Dengan menghambat sintesis dan pelepasan IL-1 yang menyebabkan hambatan terhadap induksi sel limfosit T CD4⁺ untuk mensintesis IL-2 (Daniel *et al*,1997). Terhambatnya IL-2 menyebabkan menurunnya rangsangan pada reseptor terhadap sitokin, hal ini mengakibatkan menghambatnya fungsi produksi dari neutrofil.

Study lebih lanjut menunjukkan bahwa mekanisme kortikosteroid terhadap respon imun disebabkan oleh hambatan terhadap fungsi transkripsi NF-KB yang merupakan regulator dari berbagai macam sitokin (Daniel *et al*,1997). Salah satu faktor transkripsi IL-2 adalah NF-kB, AP-1 dan NFAT (Abbas *et al*, 2000)

2.5. Hubungan Ekstrak Daun Sambiloto dengan Jumlah Netrofil

Sambiloto merupakan tumbuhan herbal yang memiliki efek salah satunya adalah sebagai imunomodulator. Peran kandungan ekstrak sambiloto yaitu andrografolide ditunjukkan oleh peningkatan proliferasi limfosit dan peningkatan produksi IL-2 (interleukin-2) (Ivan, 2003). Interleukin 2 merupakan sitokin yang berperan pada proliferasi sel T dimana IL-2 berasal dari sel T itu sendiri.

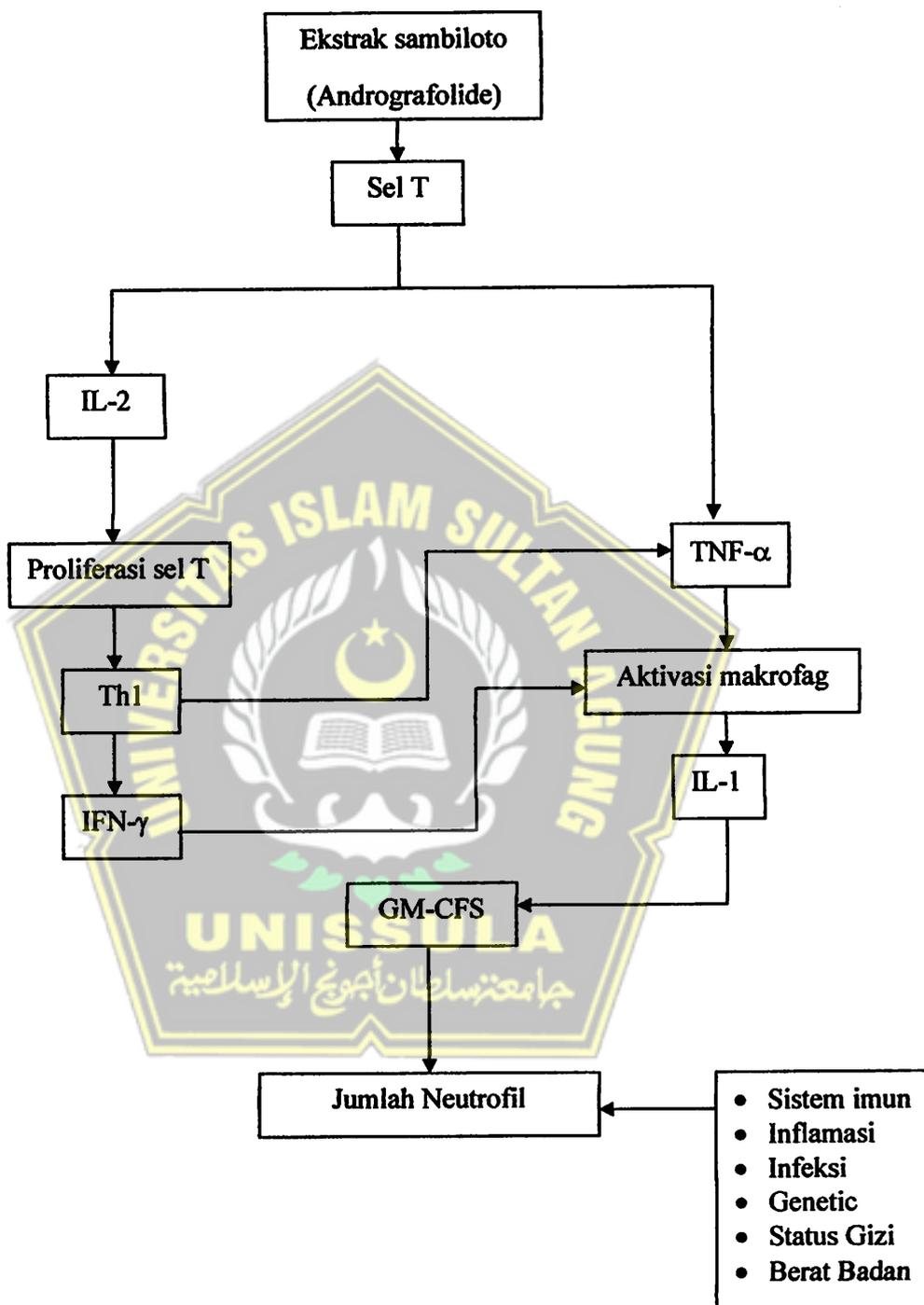
Efek imunomodulator dari Andrografolide yakni dengan menginduksi sel T untuk meningkatkan produksi IL-2. Peningkatan produksi IL-2 merangsang sel T untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel Th1 (Bratawidjaja, 2004). Th1 mengeluarkan sitokin berupa IFN- γ , TNF (Abbas *et al*,2000). Dimana IFN- γ merangsang aktivasi makrofag. Makrofag yang teraktifasi mengeluarkan sitokin yaitu IL-1 dan merangsang GM-CFU supaya terjadi granulopiesis serta mengeluarkan netrofil dalam sumsum tulang menuju intravaskular. (Bratawidjaja, 2004).

Andrografolide juga meningkatkan produksi TNF α (Tumor Nekrosis Factor-alpha) (Ivan, 2003). TNF adalah salah satu sitokin pada sistem imun nonspesifik dimana mengaktifkan netrofil serta makrofag yang mensekresi kemokin dan menginduksi kemotaksis serta mengerahkan netrofil. Kemokin merupakan sitokin yang berperan dalam kemotaksis sel-sel leukosit (monosit, limfosit, netrofil, eosinofil) ke intravascular (Bratawidjaja, 2004). TNF juga merangsang IL-1 dan GM-CFU supaya terjadi granulopiesis (Hoffbrand, 2002)

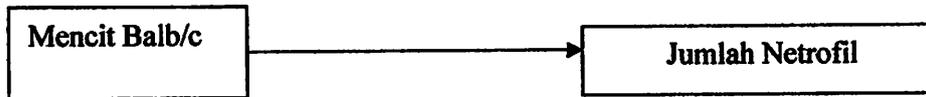
Jadi pengaruh kandungan sambiloto adalah andrografolide sebagai imunostimulator, dimana menstimulasi dan meningkatkan proliferasi limfosit dan produksi IL-2 juga meningkatkan produksi TNF α dan berinteraksi dengan tubuh pejamu yang akhirnya dapat merangsang respon pertumbuhan dan pematangan netrofil.



2.6. Kerangka Teori



2.7. Kerangka Konsep



2.8. Hipotesis

Terdapat pengaruh ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap jumlah neutrofil mencit Balb/c yang diinduksi oleh prednisone



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan penelitian “*Post test only control group design*”.

3.2. Variable dan Definisi Operasional

3.2.1. Variable Penelitian

3.2.1.1. Variable Bebas : Ekstrak sambiloto

3.2.1.2. Variable Tergantung : Jumlah Netrofil

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Variabel Bebas

Ekstrak Sambiloto dibuat dari daun sambiloto yang sudah melalui proses ekstraksi. Diberikan dalam bentuk sediaan cair dengan berbagai konsentrasi antara lain 10%, 20% dan 30%.

Skala : Ordinal

3.2.2.2. Variabel Tergantung

Jumlah netrofil adalah seluruh sel netrofil batang dan segmen dalam 100 sel leukosit pada sediaan apus darah tepi lalu dikalikan dengan jumlah leukosit.

Skala : Ratio

3.3. Populasi dan Sample

3.3.1. Populasi penelitian

Mencit jantan Balb/c yang ada di laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang.

3.3.2. Sample penelitian

Mencit yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut

3.3.2.1. Kriteria inklusi

3.3.2.1.1. Umur mencit 8-12 minggu

3.3.2.1.2. Berat badan antara 30-40 gram

3.3.2.1.3. jumlah leukosit $7,1 - 11,9 \times 10^3/\text{mm}^3$

3.3.2.2. Kriteria eksklusi

3.3.2.2.1. Mencit mati dalam penelitian yang sedang berlangsung.

3.3.2.2.2. Mencit sakit yang dilihat dari:

- Jumlah leukosit kurang dari $7,1 \times 10^3/\text{mm}^3$ atau lebih dari $11,9 \times 10^3/\text{mm}^3$
- Jumlah neutrofil dalam leukosit kurang dari 50% dan lebih dari 70%

Hewan coba yang digunakan 25 ekor mencit yang dibagi menjadi lima kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor sampel yang diambil secara random. Rumus ini berdasarkan pada ketentuan WHO yang menyebutkan batas minimal hewan coba yang digunakan dalam penelitian eksperimental 5 ekor tiap kelompok penelitian (WHO, 1993)

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen

- 3.4.1.1. Mikroskop
- 3.4.1.2. Sonde
- 3.4.1.3. Timbangan elektrik
- 3.4.1.4. Kandang hewan coba
- 3.4.1.5. kapas
- 3.4.1.6. objek glass.

3.4.2. Bahan Penelitian

- 3.4.2.1. Ekstrak sambiloto
- 3.4.2.2. Alkohol 70%
- 3.4.2.3. Metanol Absolut
- 3.4.2.4. Larutan Giemsa
- 3.4.2.5. Mencit Balb/C
- 3.4.2.6. Pakan standart mencit
- 3.4.2.7. Aquadest



3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Pembuatan ekstrak sambiloto

Ekstrak yang dibuat dari daun sambiloto segar sebanyak 500 g dicuci bersih lalu dikeringkan dengan oven pengering dalam suhu 45°C, kemudian daun sambiloto di blender sampai halus. Diambil 20 gr untuk di ekstraksi lalu di filtrasi dengan corong buncher, tekan vakum suhu 45°C sampai diperoleh ekstrak kental, hasil diuapkan lagi sampai air dalam oven pengering konstan sehingga diperoleh ekstrak kering.

3.5.2. Dosis Prednison

Prednison merupakan obat kortikosteroid yang mempunyai efek anti inflamasi dan efek immunosupresi mulai dari pengaruh terhadap leukosit perifer hingga supresi terhadap sitokin. Dosis mencit didapatkan dengan cara mengkonversi dari dosis manusia dewasa yakni 0,9 mg/35 gr BB

3.5.3. Pengelompokan mencit Balb/c

Mencit Balb/c dibagi 5 kelompok, masing-masing kelompok mendapat perlakuan sebagai berikut:

- Kelompok I : sebagai kontrol mencit hanya diberi diet standart
- Kelompok II : mencit diberi prednison selama 7 hari.
- Kelompok III : mencit diberi prednison selama 7 hari dan diberi 0.35 ml/35gr BB ekstrak sambiloto 10% selama 7 hari.

Kelompok IV : mencit diberi prednison selama 7 hari dan diberi 0.35 ml/35gr BB ekstrak sambiloto 20% selama 7 hari.

Kelompok V : mencit diberi prednison selama 7 hari dan diberi 0.35 ml/35gr BB ekstrak sambiloto 30% selama 7 hari.

Selama percobaan semua mencit mendapat diet standar selama 14 hari.

3.5.3. Lama Perlakuan

Lama perlakuan dilakukan selama 2 minggu. Merupakan hasil konversi dengan usia manusia. Dimana 2 tahun manusia sama dengan 2 minggu umur mencit.

3.5.4. Perlakuan pada mencit Balb/c

Mencit Balb/c jantan 8-12 minggu dengan berat badan rata-rata 35 gram dibagi menjadi 5 kelompok percobaan dengan rancangan acak. Pada kelompok I tidak mendapat perlakuan hanya diberi diet standart dan aquadest selama 14 hari. Pada kelompok II mendapat diet standar dan aquadest ditambah dengan pemberian pemberian prednison dosis 0,9 mg/ 35 g BB selama hari 1 sampai hari 7. Pada kelompok III mendapat diet standar dan aquadest ditambah dengan pemberian pemberian prednison dosis 0,9 mg/ 35 g BB selama 7 hari dan mendapat perlakuan ekstrak sambiloto 10% dosis 0.35 ml/35gr BB pada 7 hari berikutnya. Pada kelompok IV mendapat diet standar dan aquadest ditambah dengan

pemberian pemberian prednison dosis 0,9 mg/ 35 g BB selama 7 hari dan mendapat perlakuan ekstrak sambiloto 20% dosis 0.35 ml/35gr BB pada 7 hari berikutnya. Kelompok V mendapat diet standar dan aqudest ditambah dengan pemberian pemberian prednison dosis 0,9 mg/ 35 g BB selama selama 7 hari dan mendapat perlakuan ekstrak sambiloto 30% dosis 4 ml/kg BB pada 7 hari berikutnya. Hari ke 15 semua mencit diambil darahnya dari ekor pada mencit untuk mendapatkan darahnya.

3.5.6. Penghitungan Sel Netrofil

Setelah dilakukan perlakuan selama 2 minggu, seluruh mencit di ambil darahnya. Kemudian kita teteskan ke objek glass lalu kita spread untuk menjadi sediaan apus darah tepi. Letakan sediaan darah apus pada dua batang gelas di atas bak tempat pewarnaan. Fiksasi sediaan darah apus dengan alkohol 70% selama 2-3 menit. Genangi sediaan darah apus dengan zat warna giemsa dan biarkan selama 20-30 menit. Bilas dengan air ledeng, mula-mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan warna. Letakan sediaan hapus dalam rak dalam posisi tegak dan biarkan mengering.

Pembacaan dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 x. cara menghitung netrofil dalam hitung jenis leukosit dalam lapangan pandang zona 5-6. Pada zona 5-6 sel-sel darah mudah untuk dilihat karena sel darah tidak bertumpukan(rulou). Setelah mendapatkan sel neutrofil dalam 100 sel leukosit maka dihitung dengan:

$$(\text{Sel neutrofil} \times \text{jumlah leukosit})/100 = \text{jumlah neutrofil}$$

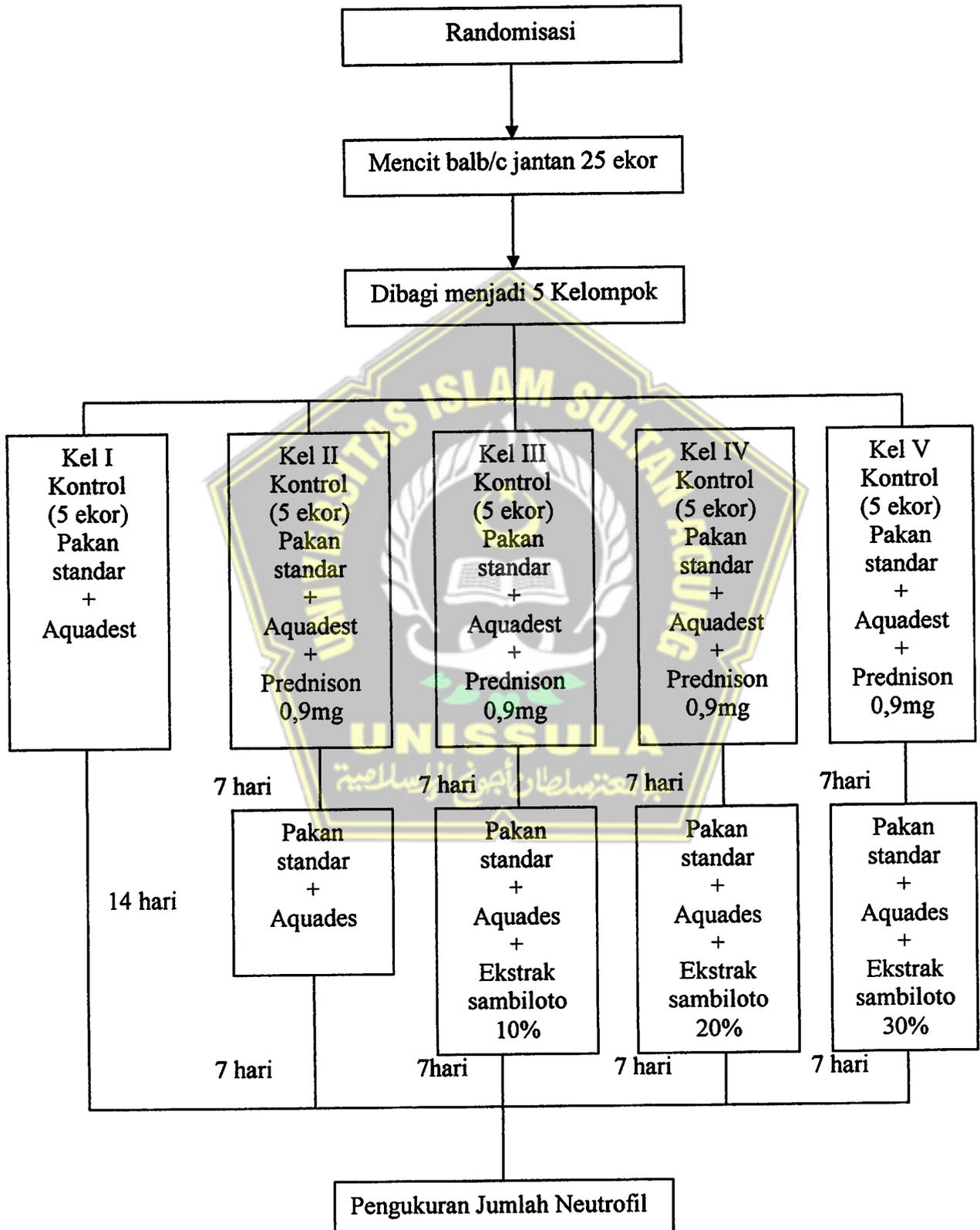
Contoh: ditemukan 50 sel neutrofil dalam 100 sel leukosit pada jumlah jenis leukosit. Diketahui jumlah leukosit $9.000/\text{mm}^3$, maka jumlah neutrofil adalah:

$$\frac{(50 \times 9000)}{100} = 4.500$$

Maka jumlah neutrofilnya adalah $4.500/\text{mm}^3$.



3.6. Alur Penelitian

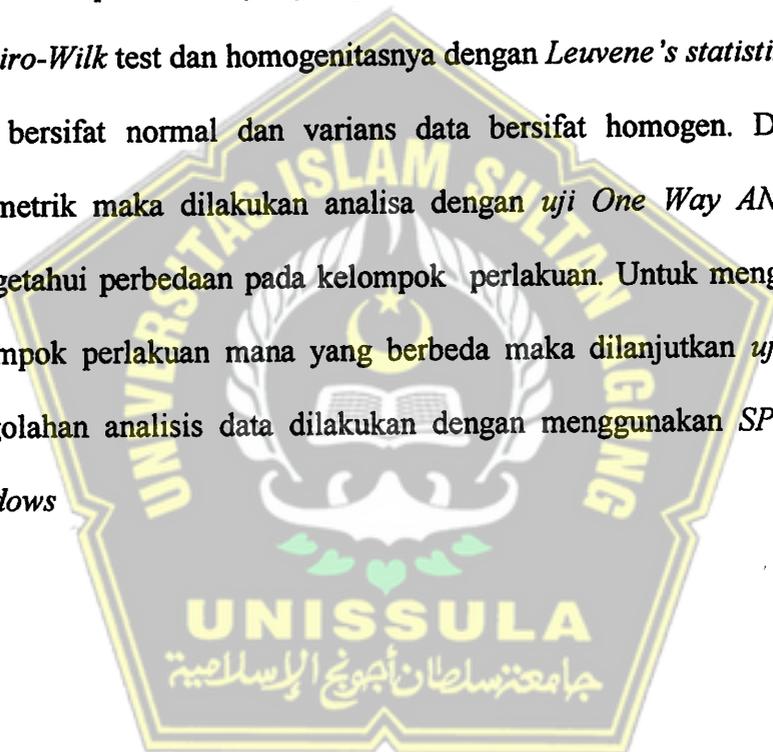


3.7. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2010 di Laboratorium Biologi FMIPA UNNES.

3.8. Analisa Hasil

Untuk menentukan jenis data normal atau tidak normal sebelumnya data hasil penelitian yang diperoleh dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* test dan homogenitasnya dengan *Leuvene's statistik*. Distribusi data bersifat normal dan varians data bersifat homogen. Data bersifat parametrik maka dilakukan analisa dengan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan pada kelompok perlakuan. Untuk mengetahui pada kelompok perlakuan mana yang berbeda maka dilanjutkan uji *Post Hoc*. Pengolahan analisis data dilakukan dengan menggunakan *SPSS 15.0 for Windows*



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Telah dilakukan penelitian pengaruh pemberian ekstrak sambiloto terhadap jumlah neutrofil pada mencit Balb/C jantan yang diinduksi prednison dengan sampel 25 ekor tikus yang dibagi menjadi lima kelompok. Penelitian dilakukan selama 14 hari di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang (UNNES). Adapun hasil perhitungan jumlah neutrofil pada kelima kelompok dapat dilihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1. Rerata hasil penelitian jumlah neutrofil ($/\text{mm}^3$)

Sampel	Kelp I	Kelp II	Kelp III	Kelp IV	Kelp V
1	6100	3780	4554	6790	5472
2	4692	2856	5040	5576	3770
3	5120	2600	4560	4347	4355
4	4864	2914	3300	6020	5644
5	4896	1998	6020	3840	6370
Rata-rata	5134,4	2835,0	4712,8	5314,6	5122,2

Keterangan tabel:

Kelompok I : Mencit sebagai kontrol diberi aquades dan pakan standar.

Kelompok II : Mencit kelompok kontrol negatif diberi aquades dan prednison.

Kelompok III : Mencit kelompok perlakuan diberi aquades, prednison dan ekstrak sambiloto 10%

Kelompok IV : Mencit kelompok perlakuan diberi aquades, prednison dan ekstrak sambiloto 20%

Kelompok V : Mencit kelompok perlakuan diberi aquades, prednison dan ekstrak sambiloto 30%

Dari hasil tabel 4.1. diatas diketahui bahwa rerata hasil pengukuran jumlah neutrofil yang paling tinggi terdapat pada kelompok IV dengan nilai $5314,6/\text{mm}^3$, sedangkan rerata hasil pengukuran jumlah neutrofil yang paling rendah terdapat pada kelompok II dengan nilai $2835/\text{mm}^3$. Pada kelompok I menunjukkan hasil rerata jumlah neutrofil adalah $5134,4/\text{mm}^3$ dan pada kelompok III didapatkan rerata jumlah neutrofil adalah $4712,8/\text{mm}^3$, sedangkan pada kelompok V didapatkan rerata jumlah neutrofil adalah $5122,2/\text{mm}^3$. Hasil penelitian diuji normalitasnya dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*.

Tabel 4.2. Hasil Uji Normalitas data

Kelompok	sig
Kelompok I	0,068
Kelompok II	0,851
Kelompok III	0,841
Kelompok IV	0,774
Kelompok V	0.750

Dari hasil uji normalitas data berdasarkan tabel 4.2, didapatkan bahwa nilai signifikansi pada berbagai kelompok adalah $p > 0,05$. Dapat disimpulkan bahwa sebaran kelima kelompok data adalah normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas data dengan menggunakan Levene

statistic, didapatkan nilai signifikansi yaitu $p=0,279$, sehingga $p>0,05$ dapat disimpulkan varians data adalah sama, oleh karena itu data dapat diuji dengan uji statistik parametrik *One Way Anova*.

Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa nilai $p=0,02$ sehingga $p<0,05$ dapat diartikan bahwa paling tidak terdapat perbedaan jumlah neutrofil secara bermakna pada dua kelompok. Untuk mengetahui perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan maka dilanjutkan analisa uji *Post Hoc* dengan hasil seperti pada tabel 4.3

Tabel 4.3. Perbandingan antar lima kelompok

Perbandingan kelompok	Probabilitas	Keterangan
Kelompok I dan II	0,001	Ada perbedaan
Kelompok I dan III	0,478	Tidak ada perbedaan
Kelompok I dan IV	0,760	Tidak ada perbedaan
Kelompok I dan V	0,984	Tidak ada perbedaan
Kelompok II dan III	0,004	Ada perbedaan
Kelompok II dan IV	0,000	Ada perbedaan
Kelompok II dan V	0,001	Ada perbedaan
Kelompok III dan IV	0,314	Tidak ada perbedaan
Kelompok III dan V	0,490	Tidak ada perbedaan
Kelompok IV dan V	0,745	Tidak ada perbedaan

Dari hasil uji *post hoc* berdasarkan tabel 4.3. diperoleh hasil Kelompok I dengan II $p=0,001$; Kelompok I dengan III $p=0,478$; Kelompok I dengan IV

$p=0,760$; Kelompok I dengan V $p=0,984$; Kelompok II dengan III $p=0,004$; Kelompok II dengan IV $p=0,000$; Kelompok II dengan V $p=0,001$; Kelompok III dengan IV $p=0,314$; Kelompok III dengan V $p=0,490$; Kelompok IV dengan V $p=0,745$. Dengan demikian perbedaan jumlah neutrofil berbeda secara bermakna ($p<0,05$) pada Kelompok I dengan II, Kelompok II dengan III, Kelompok II dengan IV, dan Kelompok II dengan V.

4.2. Pembahasan

Pada hasil penelitian didapatkan bahwa pada kelompok I (mencit yang diberi pakan standar) jumlah rata-rata neutrofil adalah sebesar $5.134/\text{mm}^3$. Dan ini dijadikan control sebagai standar rata-rata jumlah neutrofil mencit yang normal.

Pada kelompok II (mencit yang diberi prednisone) jumlah rata-rata neutrofil adalah sebesar $2.835/\text{mm}^3$. Dari uji hasil statistik yang telah dilakukan dengan Interval Kepercayaan 95% didapatkan nilai $p = 0.001$, artinya ada perbedaan yang bermakna pada kelompok I (yang diberi pakan standar) sebagai kontrol dengan kelompok II (yang diberi diet prednison). Pemberian prednisone selama 7 hari pada kelompok II dengan dosis $0,9 \text{ mg}/35 \text{ gr BB}$ akan menimbulkan penekanan pada system imun (Sigit, 1996). Obat ini dapat menyebabkan efek antiinflamansi dan imunosupresif mulai dari pengaruh terhadap leukosit perifer hingga efek supresif terhadap sitokin (Katzung, 1997). Penelitian menunjukkan glukokortikoid menyebabkan penurunan jumlah limfosit, monosit, basofil dan neutrofil. Dengan

menghambat sintesis dan pelepasan IL-1 yang menyebabkan hambatan terhadap induksi sel limfosit T CD4⁺ untuk mensintesis IL-2 sehingga menghambat fungsi dari neutrofil (Daniel *et al*,1997). Penelitian Sigit (1996) membuktikan penggunaan obat kortikosteroid prednisone dilakukan untuk memperoleh model hewan coba yang tertekan sisten imun.

Menurut Lanza *et al* (1996) prednisone termasuk salah satu obat immunosupresif yang kuat, aktifitas prednisone dalam menghambat respon imun diantaranya hambatan proses presentasi antigen, hambatan terhadap produksi IL-1 dan interferon gamma dan beberapa reseptor terhadap sitokin.

Pada hasil penelitian rerata jumlah neutrofil pada kelompok III (yang diberi prednison dan ekstrak sambiloto 10%) adalah 4712/mm³, rerata jumlah neutrofil pada kelompok IV (yang diberi prednison dan ekstrak sambiloto 20%) adalah 5314,6/mm³, sedangkan rerata jumlah neutrofil pada kelompok V (yang diberi prednison dan ekstrak sambiloto 30%) adalah 5122,2/ mm³.

Pada uji statistik yang telah dilakukan dengan Interval Kepercayaan 95% didapatkan nilai $p= 0.004$, bahwa ada perbedaan kelompok II (yang diberi prednisone) dengan kelompok III (yang diberi prednisone dan ekstrak sambiloto 10%). Uji statistik yang telah dilakukan dengan Interval Kepercayaan 95% didapatkan nilai $p= 0.000$, bahwa ada perbedaan yang bermakna pada kelompok II (yang diberi prednison) dengan kelompok IV (yang diberi prednisone dan ekstrak sambiloto 20%). Uji statistik yang telah dilakukan dengan Interval Kepercayaan 95% didapatkan nilai $p= 0.00$, bahwa ada perbedaan yang bermakna pada kelompok II (yang diberi

prednisone) dengan kelompok V (yang diberi prednisone dan ekstrak sambiloto 30%). Peran kandungan ekstrak sambiloto yaitu andrografolide ditunjukkan oleh peningkatan proliferasi limfosit dan peningkatan produksi IL-2 (interleukin-2) (Ivan, 2003). Peningkatan produksi IL-2 dapat merangsang sitokin-sitokin yang merangsang proses granulopoiesis dan pematangan sel neutrofil. Penelitian lain menyatakan bahwa ekstrak sambiloto dapat meningkatkan fagositosis makrofag, menstimulasi sel Natural Killer (Sidna,2003) dan menginduksi pelepasan IL-2 dan TNF (Ivan,2003).

Pada uji statistik yang telah dilakukan dengan Interval Kepercayaan 95% didapatkan nilai $p = 0,478$, artinya tidak ada perbedaan pada kelompok I (yang diberi pakan standar) dengan kelompok III (yang diberi ekstrak sambiloto 10%) dan pada uji statistik yang telah dilakukan dengan Interval Kepercayaan 95% didapatkan nilai $p = 0,760$, artinya tidak ada perbedaan yang bermakna pada kelompok I (yang diberi pakan standar) dengan kelompok IV (yang diberi ekstrak sambiloto 20%) dan pada uji statistik yang telah dilakukan dengan Interval Kepercayaan 95% didapatkan nilai $p = 0,984$, artinya tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok I (yang diberi pakan standar) dengan kelompok V (yang diberi ekstrak sambiloto 30%). Pemberian ekstrak sambiloto selama 7 hari pada kelompok III, kelompok IV dan kelompok V yang sebelumnya mendapatkan pemberian prednisone selama 7 hari membuktikan bahwa ekstrak sambiloto bersifat imunomodulator. Ekstrak sambiloto menyebabkan stimulasi respon imun

humoral maupun seluler (Sutardji *et al*,1990). Hal ini membuktikan ekstrak sambiloto dapat meningkatkan jumlah neutrofil hingga keadaan normal pada pemberian obat kortikosteroid.

Pada uji statistik yang telah dilakukan dengan Interval Kepercayaan 95% didapatkan nilai $p = 0,314$, artinya tidak ada perbedaan pada kelompok III (yang diberi prednisone dan ekstrak sambiloto 10%) dengan kelompok IV (yang diberi prednisone dan ekstrak sambiloto 20%). Pada uji statistik yang telah dilakukan dengan Interval Kepercayaan 95% didapatkan nilai $p=0,490$, artinya tidak ada perbedaan yang bermakna pada kelompok III (yang diberi prednisone dan ekstrak sambiloto 10%) dengan kelompok V (yang diberi prednisone dan ekstrak sambiloto 30%) dan pada uji statistik yang telah dilakukan dengan Interval Kepercayaan 95% didapatkan nilai $p=0,745$, artinya tidak ada perbedaan pada kelompok IV (yang diberi prednisone dan ekstrak sambiloto 20%) dengan kelompok V (yang diberi prednisone dan ekstrak sambiloto 30%). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian 4 ml/kg BB ekstrak sambiloto dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30% mempunyai efektifitas yang hampir sama. Berdasarkan penelitian Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi DEPKES RI bahwa ekstrak sambiloto 4 ml/kg BB dengan konsentrasi 20% merupakan imunomodulator yang baik (Cahyaningsih, 2007). Hal ini dapat dilihat dari hasil rerata pada kelompok IV yaitu $5314,6/\text{mm}^3$ yang merupakan kelompok rerata yang paling banyak dari semua kelompok perlakuan.

Penyebab lebih sedikitnya kelompok V (kelompok yang diberi ekstrak sambiloto 30%) $5122,2/\text{mm}^3$ daripada kelompok IV (kelompok yang diberi ekstrak sambiloto 20%) menurut Cahyaningsih(2007), dosis yang lebih tinggi dari 4 ml/kg BB dengan konsentrasi 20% cenderung immunosupresif. Mekanisme biomolekuler penyebab immunosupresif pada sambiloto masih belum diketahui secara pasti (Shen et al, 2002).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak sambiloto dapat meningkatkan jumlah neutrofil mencit Balb/c yang diinduksi prednisone. Hal ini sesuai dengan penelitian Nuratmi et al (1996) dan Sutardji *et al* (1990) yang menyatakan bahwa ekstrak sambiloto mempunyai efek immunomodulator. Kandungan Andrografolide pada ekstrak sambiloto dapat menginduksi pelepasan IL-2 dan TNF (Nuratmi *et al*, 1996). Sehingga dapat meningkatkan jumlah neutrofil dalam darah pada pemberian obat kortikosteroid. Sehingga ekstrak sambiloto dapat digunakan sebagai immunomodulator jumlah neutrofil pada kasus immunosupresi karena obat kortikosteroid.

Keterbatasan dalam penelitian ini antara lain penelitian ini hanya meneliti tentang neutrofil saja selain itu tidak diketahui efek immunomodulator bagi sel leukosit yang lainya. Peneliti hanya meneliti efek immunomodulasi ekstrak sambiloto jumlah neutrofil mencit yang tersupresi immunnya oleh prednisone. Namun, belum dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak sambiloto terhadap jumlah neutrofil mencit yang normal untuk melihat adanya efek immunomodulasi atau tidak.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. SIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan dapat di ambil kesimpulan :

5.1.1. Terdapat pengaruh ekstrak sambiloto terhadap jumlah neutrofil mencit Balb/c yang diinduksi prednisone.

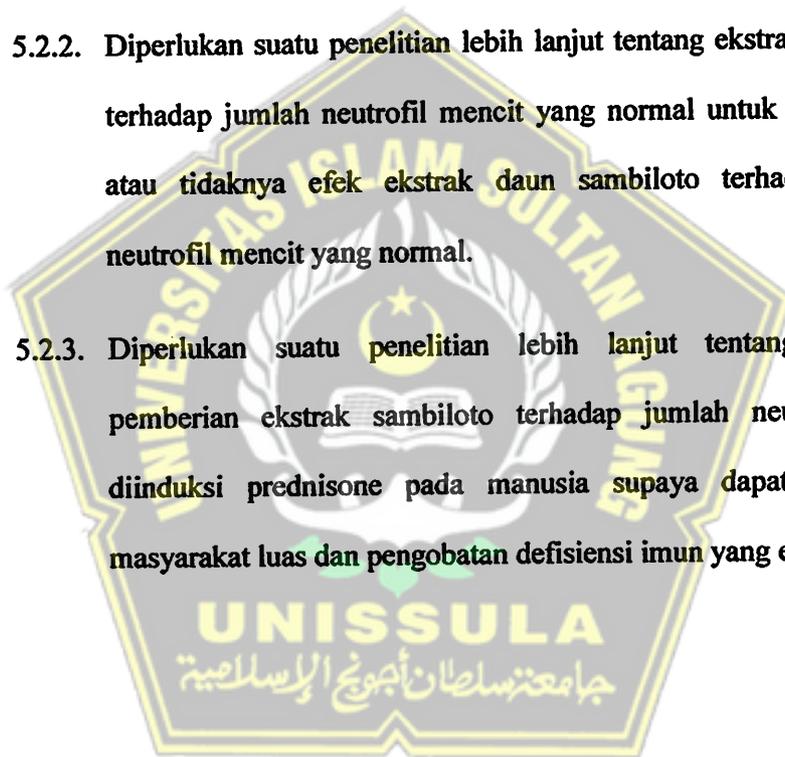
5.1.2. Rerata jumlah neutrofil pada kelompok I (yang diberi pakan standar) adalah 5134/mm, rerata jumlah neutrofil pada kelompok II (yang diberi prednison) adalah 2835/mm, rerata jumlah neutrofil pada kelompok III (yang diberi prednison dan ekstrak sambiloto 10%) adalah 4712/mm, rerata jumlah neutrofil pada kelompok IV (yang diberi prednison dan ekstrak sambiloto 20%) adalah 5314,6/mm, sedangkan rerata jumlah neutrofil pada kelompok V (yang diberi prednison dan ekstrak sambiloto 30%) adalah 5122,2/mm.

5.1.3. Terdapat perbedaan antara kelompok mencit Balb/c jantan yang diberi prednisone dengan kelompok mencit Balb/c jantan yang diberi ekstrak sambiloto dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30%, namun tidak ada perbedaan antara kelompok mencit Balb/c jantan yang di beri pakan standart dengan kelompok mencit Balb/c jantan yang diberi ekstrak sambiloto 10%, 20% dan 30%.

5.1.4. Tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok mencit Balb/c jantan yang diberi ekstrak sambiloto 10%, 20% dan 30%.

5.2. SARAN

- 5.2.1. Diperlukan suatu penelitian lebih lanjut tentang kandungan ekstrak sambiloto dengan imunoregulasi kompleks imun lainnya supaya dapat diketahui efek imunoregulasi kompleks imun yang lainnya.
- 5.2.2. Diperlukan suatu penelitian lebih lanjut tentang ekstrak sambiloto terhadap jumlah neutrofil mencit yang normal untuk melihat ada atau tidaknya efek ekstrak daun sambiloto terhadap jumlah neutrofil mencit yang normal.
- 5.2.3. Diperlukan suatu penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian ekstrak sambiloto terhadap jumlah neutrofil yang diinduksi prednisone pada manusia supaya dapat digunakan masyarakat luas dan pengobatan defisiensi imun yang efektif.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, K Abdul, Lichtman Andrew, Pober Jordan, 2000, *Cellular and Molecular Immunology 4th*, W .B Saunders Company, p: 4-227
- Anonim 5, 2009. Multikhasiat Dibalik Pahitnya Sambiloto. [Http://id.wordpress.com/tag/hasil-penelitian/](http://id.wordpress.com/tag/hasil-penelitian/), 20 Oktober 2009
- Anonim, 2006, Sambiloto, www.refleksiteraphy.com, 31 November 2009.
- Anonim, 2009, Sambiloto (*Andrographis Paniculata*), <http://www.iptek.net.id>, 12 desember 2005
- Arrundina, I., 2003, *Efek Anti Inflamasi Catechin pada Marmut dengan Metode Pembentukan Oedem yang Diinduksi Karagenik*, Jurnal Penelitian Medika Eksakta, 4 (3) : 189-195
- Bratawidjadja, K.G., 2006, *Imunologi Dasar*, Edisi 7, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran UI, Jakarta : 13
- Daniel P Stites, Abba I Terr, Tristain G Parslow, 1997, *Medical Immunology 9th*, Appleton dan lange, Stamford, p: 43-846
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Pemanfaatan Tanaman Obat, Edisi III (Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, 1983).
- Dijk, H., 1994, *Phytomedicine and the Immune System*, edisi 3, European Scientific Cooperative on Phytotherapy : 5-15
- Guyton and Hall, 1996, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, EGC, Jakarta : 547-548
- Hargono, D., 1996, *Sekelumit Mengenai Obat Nabati dan Sistem Imunitas*, Jurnal Cermin Dunia Kedokteran 108 (5)
- Hoffbrand A.V, Pettit J.E, Moss P.A.H, 2002, *Kapita Selekt Hematologi 4th*, EGC, Jakarta
- Irma Dana, 2009, Khasiat Herbal Sambiloto, www.iptek.Net.id, 17 juni 2009
- Irmawati Ike, Tjahjono P.A, Drahmna Edi, 2002, *Pengaruh jus aloe vera terhadap proliferasi limfosit, Produksi reactive oxygen intermediate dan Koloni kuman Organ hepar mencit balb/c yang Diinfeksi*, Jurnal Media Medika Indonesiana, 35 (3) : 77-86

Ivan Prapanza E.P dan Lukito adi marianto S.P, 2003, *Khasiat & Manfaat Sambiloto Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit*, PT Agromedia Pustaka, Depok : 1-3

Jundul, 2008, *Sambiloto in Herbal*, www.Herbal.Putra.jati.Melayu.htm, 15 juli 2009

Junquire, L.C., *Histologi Dasar*, Edisi 8, EGC, Jakarta : 106-108

Katzung G Bertram, 1997, *Farmakologi dasar dan klinik* 8th, EGC, Jakarta P: 574

M. Yusron, M Januwati dan Rini Pribadi, 2005, *Budidaya Tanaman Sambiloto*, <http://www.balittro.go.id>, 29 Mei 2009

Nongki Sakinah, 2007, *Efek Ekstrak Etanol Herbal Sambiloto (Andrographis Paniculata Nees) dan Minyak Buah Merah (Panadus Conoideus LAM) Terhadap Respon Imun Mencit*, <http://bahanalam.fa.itb.ac.id/detail.php>, 9 November 2009.

Nuratmi B, Adjirni, Paramita DL, 1996, *Beberapa Penelitian Farmakologi Sambiloto Andrographis Paniculata Nees*, *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, Vol.3, No.1, Penerbit Pokjanas, Jakarta, hal. 23.

Robbins, Cotran, Kumar, 2007, *Buku Ajar Patologi edisi 7 volume 1*, EGC, Jakarta, p: 127

Roitt, Brostoff, Male, 2001, *Immunology* 6th Edition, Interbational Student Edition ISBN, P:216

Shen YC, Chen CF, and Chiou WF (2002) *Andrographolide prevents oxygen radical production by human neutrophils: possible mechanism(s) involved in its antiinflammatory effect*. *Br J Pharmacol* 135:399–406.

Sidna Artanto, 2003, *Menggali potensi tanaman obat (Andrographis paniculata) sebagai anti bakteri: penggunaan sediaan ekstrak untuk mengatasi infeksi Staphylococcus aureus galur patogen pada hewan model mencit (Mus musculus)*, *Jurnal Penalaran Mahasiswa* 2003, UGM.

Sigit I Joseph, 1996, *Kajian Aktivitas Immunostimulan dari Ekstrak Air Umbi Allium Sativum L.* Sekolah Farmasi ITB.

Stites, Abba I Terr, 1997, *Medical Immunology* 9th, Appleton dan lange, Stamford, p: 43-846

Sutardji et al, 1990, Penelitian aktivitas biologis tanaman obat Indonesia melalui beberapa pendekatan immunologis, (No. 462 P), PPOT UNAIR

Sylvia A Price and Loraine Wilson M, 1997, *Patofisiologi: Konsep Klimis Proses Penyakit 4 th*, EGC, Jakarta

Vidia Ramadaningsih Kadar, 2009, Peningkatan Kadar Andrografolid dari Kultur Sel *Andrographis Paniculata* (Burm.f.) Wallich ex Ness Melalui Teknis Amobilisasi Sel Dalam Bioreaktor, erly@sith.itb.ac.id, 9 November 2009

WHO, 1993, *Research Guidelines for the Safety and Effrcacy of Herbal Medicine, Regional Office for the Watern Paciffic*, Manila, P: 35

Widianto, M, B., 1987, *Imunomodulator*, Jurnal Cermin Dunia Kedokteran, 44 : 43-45

Zaikiudin, 2002, Penggunaan Imunomodulator pada infeksi Paru, Makalah Pertemuan Ilmiah Paru Milenium

Zoha MS, Hussain AH and Choudhury SA, 1989, Antifertility Effect of *Andrographis paniculata* in Mice, Bangladesh Med.Res.Counc.Bull. 1989 Jun; 15(1): 34.

