

TESIS

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP PROFIL SEL
DARAH PUTIH PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
YANG DIBERI DEKSAMETASON**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



KDA
Kc
TKD 02/14
Hen
e

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
BURABAYA

ARIEF HENDRANINGRAT
011214153012

PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2014

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP PROFIL SEL
DARAH PUTIH PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
YANG DIBERI DEKSAMETASON**

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga**

Oleh:

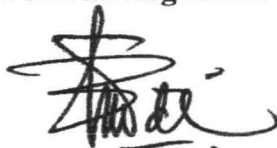
**ARIEF HENDRANINGRAT
011214153012**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2014**

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI
Tanggal 15 Juli 2014

Pembimbing Ketua



Dr. Elyana Asnar STP, dr., M.S.
NIP. 19500707 197903 2 001

Pembimbing



Choesnan Effendi, dr., AIFM.
NIP. 19471208 197403 1 002

Mengetahui
Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Dr. Susilowati Andajani, dr., M.S.
NIP. 19550520 198303 2 002

Tesis ini telah diuji dan dinilai
Oleh panitia penguji
Program Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Pada tanggal 15 Juli 2014

Panitia Penguji Tesis

Ketua : 1. Tjitra Wardani, dr., M.S
Anggota : 2. Dr. Elyana Asnar STP, dr., M.S
3. Choesnan Effendi, dr., AIFM
4. Roostantia Indrawati S, dr., M.Kes., AFK
5. Dr. Florentina Sustini, dr., M.S

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga tesis ini dapat selesai tepat waktu.

Terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada yang terhormat Dr. Elyana Asnar STP., dr., M.S. selaku pembimbing utama yang dengan penuh kesabaran dan perhatian memberikan bimbingan, kritik, saran, serta motivasi dari awal hingga akhir penyelesaian tesis.

Terima kasih yang tak terhingga, penghargaan serta penghormatan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Choesnan Effendi, dr., AIFM selaku pembimbing yang selalu bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberi bimbingan dan motivasi sejak awal penyusunan tesis.

Dalam kesempatan yang baik ini, perkenankan saya menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr. H. Fasich, Apt., yang telah memberikan kesempatan menjadi mahasiswa di Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., Sp.PD., K-EMD., FINASIM, yang telah memberikan kesempatan menjadi mahasiswa di Program Pasca Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
3. Dr. Susilowati Andajani, dr., M.S., selaku ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar yang telah mengizinkan saya mengajukan tesis ini.

4. Dr. Elyana Asnar STP., dr., M.S., selaku Kepala Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah menerima serta memberikan ijin untuk melaksanakan pendidikan dan penelitian di Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
5. Harlina Soetjipto, dr., M.S., selaku Ketua Minat Studi Ilmu Faal Magister Ilmu Kedokteran Dasar pada Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga yang telah banyak memberikan bantuan, bimbingan serta motivasi selama penyusunan tesis ini.
6. Panitia penguji usulan penelitian: Dr. Elyana Asnar STP., dr., M.S., Choesnan Effendi, dr., AIFM, Tjitra Wardani, dr., M.S., Roostantia Indrawati S, dr., M.Kes., AFK dan Dr. Florentina Sustini, dr., M.S., yang telah memberikan banyak masukan untuk tesis ini.
7. Seluruh dosen pengajar Program Studi Magister Ilmu Kedokteran Dasar Minat Studi Ilmu Faal, pada Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga yang telah memberikan bimbingan dan ilmu selama pendidikan.
8. Seluruh Dosen beserta staf karyawan Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan dukungan serta bantuan selama menempuh pendidikan.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penyusunan tesis.

Surabaya, Juli 2014

RINGKASAN

**Efek Pemberian Ekstrak Propolis Terhadap Profil Sel Darah Putih
Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)
Yang Diberi Deksametason**

Arief Hendraningrat

Peningkatan angka pengobatan alternatif di Eropa maupun Amerika juga diikuti oleh Indonesia. Salah satu pengobatan alternatif yang tersedia adalah penggunaan obat tradisional, salah satunya yang saat ini sedang berkembang di masyarakat adalah penggunaan propolis. Propolis merupakan bagian dari produk perlembaan yang banyak tersedia di tanah air dan mulai banyak digunakan bahkan terkadang dikonsumsi dalam bentuk makanan olahan. Dari penelitian yang pernah dilakukan, propolis menunjukkan aktivitas sebagai anti-oksidan, anti-bakterial, anti-fungal, anti-protozoa, anti-tumor, anti-inflamasi, proteksi liver dan imunostimulan, sehingga propolis sering digunakan untuk meningkatkan daya tahan tubuh. Dalam tubuh manusia, sistem pertahanan terdiri dari sistem kekebalan humoral dan seluler. Sel darah putih, yang memegang peranan penting dalam sistem kekebalan tubuh seluler, dibentuk oleh sumsum tulang dan organ limfe. Setelah proses pembentukan, mereka akan beredar di dalam sirkulasi darah dan berpindah ke jaringan yang memerlukan. Penggunaan deksametason, yang memiliki efek imunodepresan, akan mengubah profil sel darah putih yang dapat meningkatkan resiko sakit.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak propolis terhadap profil sel darah putih pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan yang diberi deksametason yang dapat memberi masukan untuk menambah wawasan tentang kegunaan propolis sebagai bagian dari obat tradisional yang baik untuk pengobatan. Rancangan penelitian ini menggunakan *randomised post test only control group design*. Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan dewasa usia 3 bulan, berat 216 – 269 gram, dalam penelitian ini 25 ekor tikus dibagi menjadi 5 kelompok secara acak diberi perlakuan selama dua minggu, kelompok (K1): diberi diet standar, (K2): diberi diet standar dan deksametason 9,0 µg/200 gram BB tikus putih/ kali pemberian – dua kali perhari selama satu minggu, (K3): diet standar dan propolis 1,8 mg/ 200 gram BB tikus putih/ kali pemberian – dua kali perhari selama satu minggu, (K4): diet standar dan deksametason 9,0 µg/200 gram BB tikus putih/ kali pemberian – dua kali perhari selama satu minggu pertama dan dilanjutkan dengan diet standar dan propolis 1,8 mg/ 200 gram BB tikus putih/ kali pemberian – dua kali perhari selama satu minggu kedua, (K5): diet standar dan deksametason 9,0 µg/200 gram BB tikus putih/ kali pemberian – 2 kali perhari selama satu minggu pertama dan dilanjutkan dengan diet standar dan propolis 3,6 mg/ 200 gram BB tikus putih/ kali pemberian – dua kali perhari selama satu minggu kedua. Sampel darah diambil dari ventrikel jantung dan dilakukan pemeriksaan darah lengkap. Data hasil pemeriksaan dianalisis dengan uji statistik ANOVA, Post Hoc dengan

Tukey-HSD dan *Kruskal-Wallis* menggunakan *SPSS* yang dijalankan pada sistem operasi *opensource-linux*.

Hasil penelitian pada semua kelompok menunjukkan tidak didapatkan adanya basofil. Pada kelompok (**K2**) yang hanya diberi diet standar dan deksametason 9,0 µg/200 gram BB tikus putih/ kali pemberian – dua kali perhari selama satu minggu menunjukkan penurunan pada rerata eosinofil ($0,4 \pm 0,55$ (%)) dengan nilai $p < 0,05$, peningkatan pada rerata *band* ($0,6 \pm 0,89$ (%)), segmen ($26,6 \pm 24,11$ (%)) dan monosit ($3,8 \pm 1,79$ (%)) dengan nilai $p > 0,05$, adanya penurunan pada rerata total leukosit ($15,38 \pm 2,19$ ($10^3/\text{mm}^3$)) dan limfosit ($68,6 \pm 22,63$ (%)) dengan nilai $p > 0,05$ dibandingkan dengan kelompok kontrol (K1). Pada kelompok (**K4**) yang diberi ekstrak propolis dosis 1,8 mg/ 200 gram BB tikus putih/ kali pemberian, dua kali perhari selama satu minggu setelah diberi deksametason, menunjukkan peningkatan pada rerata monosit ($10,8 \pm 3,7$ (%)) dengan nilai $p < 0,05$, penurunan pada rerata eosinofil ($0,4 \pm 0,55$ (%)) dengan nilai $p < 0,05$, peningkatan pada rerata neutrofil (*band*: $1,6 \pm 0,89$ (%) dan segmen: $20,6 \pm 3,05$ (%)) dengan nilai $p > 0,05$, penurunan pada rerata total leukosit ($15,08 \pm 3,16$ ($10^3/\text{mm}^3$)) dan rerata limfosit ($66,6 \pm 3,97$ (%)) dibandingkan dengan kelompok kontrol (K1). Pada kelompok yang diberi ekstrak propolis (**K5**) dengan dosis 3,6 mg/ 200 gram BB tikus putih/ kali pemberian, dua kali perhari selama satu minggu, didapatkan hasil peningkatan pada rerata eosinofil ($5,2 \pm 0,84$ (%)) dan monosit ($6,4 \pm 2,51$ (%)) dengan nilai $p < 0,05$, peningkatan pada rerata total leukosit ($17,10 \pm 1,85$ ($10^3/\text{mm}^3$)), peningkatan pada rerata neutrofil (*band* : $1,4 \pm 1,67$ (%) dan segmen: $24,2 \pm 4,02$ (%)) dengan nilai $p > 0,05$, penurunan pada rerata limfosit ($62,8 \pm 4,27$ (%)) dengan nilai $p > 0,05$ bila dibandingkan dengan kelompok kontrol (K1).

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak propolis mampu mengembalikan profil sel darah putih terutama eosinofil dan monosit pada darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi ekstrak propolis. Kemampuan tersebut bergantung pada dosis pemberian.

SUMMARY

Effect of Administering Propolis Extract on White Rat's (Rattus norvegicus) White Blood Cell Profile treated with Dexamethasone

Arief Hendraningrat

Increasing number of alternative medicine in Europe and America being followed by Indonesia. Recently developed in the community is the use of propolis, one among so many others of tradisional medicine, which is part of alternative medicine. Propolis, which is part of beekeeping products, are widely available in the country and often consumed in the form of processed foods. Several studies showed that propolis has many activities as anti-oxidant, anti-bacterial, anti-fungal, anti-protozoal, anti-tumor, anti-inflammatory, liver protection and immunostimulant, so propolis is often used to increase endurance. Human body's defense system consisting of humoral and cellular immune system. White blood cells are circulating in the blood and plays an important role in the formation of the cellular immune system. They are formed partially in the bone marrow and partially in the lymph tissue. After formation, they are transported in the blood to different parts of the body where they are needed. Usage of dexamethasone, which has immunosuppressants effects, change the white blood cell profile and way of immune system behavior into a high risk condition of illness.

This research is to notice the effect of administering propolis extract on male white rat's (Rattus norvegicus) strain wistar white blood cell profile treated with dexamethasone. This research design applies randomized post test only control group design. Laboratory animal of 25 adult male strain wistar white rats were divided into 5 randomized group, and treated for two weeks. The first group (K1): was treated with standard diet, (K2): was treated with standard diet and dexamethasone 9.0 µg/ 200 gram of rat's body weight, twice daily for one week, (K3): was treated with standard diet and propolis extract 1.8 mg/ 200 gram of rat's body weight, twice daily for one week, (K4): with standard diet and dexamethasone 9.0 µg/ 200 gram of rat's body weight, twice daily for one week and followed by propolis extract 1.8 mg/ 200 gram of rat's body weight, twice daily for another week in sequence, (K5): with standard diet and dexamethasone 9.0 µg/ 200 gram of rat's body weight, twice daily for one week and followed by propolis extract 3.6 mg/ 200 gram of rat's body weight, twice daily for another week in sequence. Blood sample was collected from ventricle chamber and examined in the laboratory. Data of white blood cell profile was statistically analyzed with ANOVA, Post Hoc with Tukey-HSD and Kruskal-Wallis tests using SPSS which running on an opensource operating system-linux.

The result of this study revealed basophil's absence in all group. The result of group (K2), treated with standard diet and dexamethasone 9.0 µg/ 200 gram of rat's body weight, twice daily for one week, revealed decreased of mean of eosinophil count (0.4 ± 0.55 (%)) with value of $p < 0.05$, increased of mean of band (0.6 ± 0.89 (%)), segment (26.6 ± 24.11 (%)) and monocyte (3.8 ± 1.79 (%))

with value of $p > 0.05$, decrease of total leukocytes (17.02 ± 2.09 ($10^3/\text{mm}^3$)) and lymphocyte count ($78,4 \pm 10,01$ (%)) with value of $p > 0.05$, compare to control group (K1). The result of group (K4), was treated with standard diet and dexamethasone $9.0 \mu\text{g}/200$ gram of rat's body weight, twice daily for one week and followed by propolis extract $1.8 \text{ mg}/200$ gram of rat's body weight, twice daily for another week after, experiencing increased of mean of monocyte count (10.8 ± 3.7 (%)) with value of $p < 0.05$, decreased mean of eosinophils count (0.4 ± 0.55 (%)) with value of $p < 0.05$, increased band (1.6 ± 0.89 (%)) and segmen counts (20.6 ± 3.05 (%)) with value of $p > 0.05$, decreased of mean of total leukocytes (15.08 ± 3.16 ($10^3/\text{mm}^3$)) and lymphocyte count (66.6 ± 3.97 (%)) with value of $p > 0.05$, compare to control group (K1). Administering propolis extract on white rats treated with standard diet and dexamethasone $9.0 \mu\text{g}/200$ gram of rat's body weight, twice daily for one week and followed by propolis extract $3.6 \text{ mg}/200$ gram of rat's body weight, twice daily for another week in sequence, has change the white blood cell profile as in group (K5) which increased of mean of eosinophils (5.2 ± 0.84 (%)) and monocyte count (6.4 ± 2.51 (%)) with value of $p < 0.05$, increased mean of total leukocyte ($17,10 \pm 1,85$ ($10^3/\text{mm}^3$)), neutrophil counts (band: 1.4 ± 1.67 (%)) and segment 24.2 ± 4.02 (%)) with value of $p > 0.05$, and decreased mean of lymphocyte count (62.8 ± 4.27 (%)) with value of $p > 0.05$.

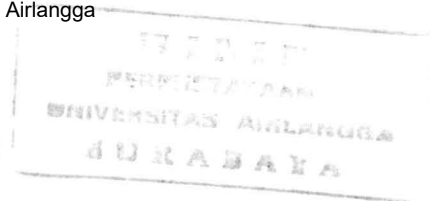
Based on the results, it is concluded that administering propolis extract is capable of restoring the white blood cells profile treated with dexamethasone and this finding is dose-related.

ABSTRACT***Effect of Administering Propolis Extract on White Rat's (Rattus norvegicus) White Blood Cell Profile treated with Dexamethasone***

Arief Hendraningrat

Objective: *The purpose of this study is to notice the effect of administering propolis extract on male white rat's (Rattus norvegicus) white blood cells profile treated with dexamethasone. Methode:* This research applies 'randomized post test only control group' design. Blood samples was collected from the heart and analised using sysmex 2000i device in the laboratory. The result was then treated as data of white blood cell profile and analyzed using SPSS running on an opensource operating system-linux. 25 rats is used in this study which divided into 5 groups and treated for two weeks. Group 1 (K1): was treated with standard diet, (K2): dexamethasone 9.0 µg/ 200 gram of rat's body weight, twice daily for one week, (K3): propolis extract 1.8 mg/ 200 gram of rat's body weight, twice daily for one week, (K4): dexamethasone 9.0 µg/ 200 gram of rat's body weight, twice daily for first one week and then followed by propolis extract 1.8 mg/ 200 gram of rat's body weight, twice daily for another week in sequence, (K5): dexamethasone 9.0 µg/ 200 gram of rat's body weight, twice daily for first one week and then followed by propolis extract 3.6 mg/ 200 gram of rat's body weight, twice daily for another week in sequence. Blood sample was collected from ventricle chamber and examined in the laboratory. Data of white blood cell profile was statistically analyzed using ANOVA, Post Hoc with Tukey-HSD, Kruskal-Wallis tests. **Result:** administering propolis extract on white rats treated with dexamethasone has change the white blood cell profile as in group (K5) by increased of mean of eosinophils (5.2 ± 0.84 (%)) and monocyte count (6.4 ± 2.51 (%)) with value of $p < 0.05$, increased mean of total leukocyte ($17,10 \pm 1,85$ ($10^3/\text{mm}^3$)), neutrophil counts (band: 1.4 ± 1.67 (%) and segment 24.2 ± 4.02 (%)) with value of $p > 0.05$, and decreased mean of lymphocyte count (62.8 ± 4.27 (%)) with value of $p > 0.05$ compare to control group (K1). **Conclusion:** this study presents the capability of propolis extract to restore the white blood cells profile of white rat's treated with dexamethasone which can be achieved at higher dose (3.6 mg/ 200 gram of rat's body weight) and this finding is dose-related.

Keywords: *propolis extract, dexamethasone, white blood cell profile.*



DAFTAR ISI

Halaman

SAMPUL DEPAN	i
SAMPUL DALAM	ii
PRASYARAT GELAR	iii
LEMBAR PERSETUJUAN	iv
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
RINGKASAN	ix
<i>SUMMARY</i>	xi
<i>ABSTRACT</i>	xiii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan umum	4
1.3.2 Tujuan khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat bagi ilmu pengetahuan	5
1.4.2 Manfaat bagi masyarakat	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Sistem Kekebalan Tubuh	6
2.1.1 Sistem kekebalan seluler	6
2.2 Dekسامetason	9
2.2.1 Struktur molekul	9
2.2.2 Efek pemberian glukokortikoid pada sistem imun	10
2.3 Ekstrak Propolis	15
2.3.1 Riwayat penggunaan propolis.....	15
2.3.2 Karakteristik dan kandungan bioaktif propolis lebah	16
2.3.3 Cara kerja propolis lebah terhadap tubuh manusia	19
2.4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	22
2.4.1 Taksonomi tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	22
2.4.2 Sifat-sifat tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	22
2.4.3 Konversi perhitungan dosis pada tikus	24
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konseptual	25
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual.....	26
3.3 Hipotesis Penelitian.....	27

BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN	
4.1	Jenis Penelitian 28
4.2	Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel 29
4.2.1	Populasi 29
4.2.2	Sampel 29
4.2.3	Besar sampel 29
4.2.4	Teknik pengambilan sampel 30
4.3	Variabel Penelitian 30
4.3.1	Variabel bebas 30
4.3.2	Variabel tergantung 30
4.3.3	Variabel terkontrol 30
4.4	Definisi Operasional Variabel 31
4.5	Bahan dan Hewan Coba Penelitian 34
4.5.1	Bahan penelitian 34
4.5.2	Hewan coba 34
4.6	Instrumen penelitian 35
4.7	Tempat dan Waktu Penelitian 35
4.8	Prosedur Penelitian 35
4.9	Analisis Data 40
4.10	Diagram Alur Penelitian 41
4.11	Risiko dan Sertifikat Laik Etik Penelitian 42
BAB 5 HASIL PENELITIAN	
5.1	Analisis Deskriptif..... 43
5.2	Uji Normalitas..... 45
5.3	Uji Homogenitas 46
5.4	Uji ANOVA 46
5.5	Uji <i>Post Hoc</i> dengan <i>Tukey-HSD</i> 47
5.6	Uji <i>Kruskal-Wallis</i> 48
BAB 6 PEMBAHASAN	
6.1	Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas..... 50
6.2	Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis Terhadap Profil Sel Darah Putih 53
6.2.1	Pengaruh pada total leukosit 53
6.2.2	Pengaruh pada eosinofil..... 54
6.2.3	Pengaruh pada basofil..... 55
6.2.4	Pengaruh pada <i>band</i> 55
6.2.5	Pengaruh pada segmen..... 56
6.2.6	Pengaruh pada limfosit..... 56
6.2.7	Pengaruh pada monosit..... 57
6.2.8	Keseluruhan hasil penelitian 59

	Halaman
BAB 7 PENUTUP	
7.1 Kesimpulan.....	60
7.2 Saran.....	61
DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN	66

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Perbandingan komposisi propolis di beberapa daerah	19
Tabel 2.2 Leukogram tikus putih galur wistar	23
Tabel 2.3 Konversi perhitungan dosis untuk beberapa jenis hewan dan manusia.	24
Tabel 4.1 Definisi operasional variabel	31
Tabel 5.1 Hasil rerata pemeriksaan total leukosit dan hitung jenis	44
Tabel 5.2 Hasil uji normalitas dengan <i>Kolmogorov-Smirnov test</i>	45
Tabel 5.3 Hasil uji homogenitas variasi	46
Tabel 5.4 Hasil uji <i>ANOVA</i>	47
Tabel 5.5 Hasil uji <i>Tukey-HSD</i> variabel total kolesterol, eosinofil, <i>band</i> , monosit	48
Tabel 5.6 Hasil uji <i>Kruskal-Wallis</i> variabel segmen dan limfosit	49
Tabel 6.1 Perbandingan profil sel darah putih antara kelompok (K2, K4, K5) dengan kelompok kontrol (K1, K2)	59

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Hitung jenis sel darah putih normal	8
Gambar 2.2 Beberapa senyawa yang termasuk golongan 'Glukokortikoid'.....	10
Gambar 2.3 Propolis	17
Gambar 3.1 Kerangka konseptual penelitian	25
Gambar 4.1 Desain penelitian	28
Gambar 4.2 Alur penelitian	41
Gambar 6.1 Grafik rerata total leukosit pada masing-masing kelompok	53
Gambar 6.2 Grafik rerata eosinofil pada masing-masing kelompok	54
Gambar 6.3 Grafik rerata <i>band</i> pada masing-masing kelompok	55
Gambar 6.4 Grafik rerata segmen pada masing-masing kelompok	56
Gambar 6.5 Grafik rerata limfosit pada masing-masing kelompok	57
Gambar 6.6 Grafik rerata monosit pada masing-masing kelompok	58
Gambar lampiran 1. 'Propoelix', produk HD-Indonesia	66

DAFTAR SINGKATAN

AA	: <i>Arachidonic Acid</i>
ADCC	: <i>Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity</i>
AEP	: <i>Aqueous extract of propolis</i>
BB	: Berat Badan
CA	: <i>Caffeic Acid</i>
CAPE	: <i>Caffeic Acid Phenethyl Ester</i>
COX	: <i>Cyclooxygenase</i>
EEP	: <i>Ethanolic extract of propolis</i>
ERK	: <i>extracellular signal-regulated kinases.</i>
g	: gram
GR	: <i>Glucocorticoid Receptor</i>
K1	: Kelompok kontrol, hanya diberi diet standar.
K2	: Kelompok perlakuan diberi deksametason.
K3	: Kelompok perlakuan diberi ekstrak propolis.
K4	: Kelompok perlakuan diberi deksametason dan ekstrak propolis.
K5	: Kelompok perlakuan diberi deksametason dan ekstrak propolis dengan dosis dua kali lipat
Kg	: kilogram
LOX	: <i>Lipoxygenase</i>
MEK	: <i>Methyl Ethyl Ketone (Butanone)</i>
mg	: miligram
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
n	: Besar sampel tiap kelompok
NF-kappa B	: <i>Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
P	: populasi.
P1	: Perlakuan berupa pemberian diet standar dan deksametason.
P2	: Perlakuan berupa pemberian diet standar dan ekstrak propolis.
P3	: Perlakuan berupa pemberian diet standar dan deksametason dilanjutkan dengan diet standar dan ekstrak propolis.
P4	: Perlakuan berupa pemberian diet standar dan deksametason dilanjutkan diet standar dan ekstrak propolis dengan dosis dua kali lipat (dd)
PMN	: <i>Polimorfonuclear</i>
RA	: <i>random allocation</i>
Ras	: salah satu keluarga <i>GTPase</i>
RS	: <i>random sampling</i>
S	: sampel.
SD	: Standar deviasi
WBC	: <i>white blood cell</i> (sel darah putih, <i>leukocyte</i>)
WHO	: <i>World Health Organization</i>
XIAP	: <i>X-linked Inhibitor Apoptosis Protein</i>
µg	: mikrogram

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Data di Amerika menunjukkan pasien yang menggunakan pengobatan alternatif lebih banyak dibandingkan dengan yang datang ke dokter umum, sedangkan di Eropa, penggunaan bervariasi dari 23% di Denmark dan 49% di Prancis. Survei Sosial Ekonomi Nasional pada tahun 2001 menyebutkan 57,7% penduduk Indonesia melakukan pengobatan sendiri, 31,7% menggunakan obat tradisional dan 9,8% memilih cara pengobatan tradisional. Penduduk Indonesia yang melakukan pengobatan sendiri pada tahun 2004 meningkat menjadi 72,44% dimana 32,87% menggunakan obat tradisional. Indonesia memiliki lebih dari 30.000 jenis tanaman, 950 jenis diantaranya memiliki fungsi penyembuhan yang sudah selayaknya bisa dikembangkan bagi kesejahteraan masyarakat Indonesia (Idward, 2011). Salah satu obat tradisional yang saat ini sedang berkembang di masyarakat adalah propolis.

Propolis merupakan salah satu produk perlebahan, yaitu bagian dari sarang lebah yang memiliki banyak efek yang berguna untuk tubuh manusia diantaranya adalah meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Propolis atau yang sering diistilahkan sebagai *bee glue* telah memiliki sejarah yang panjang dan telah digunakan sebagai ramuan sejak jaman Yunani dan Romawi kuno. Saat ini penggunaan propolis masih berupa 'makanan sehat', 'bio-kosmetik' dan lain sebagainya (Wagh, 2013). Beberapa penelitian menyatakan propolis di daerah tertentu memiliki komposisi zat kimiawi yang tertentu pula, tergantung dari lingkungan dimana sarang lebah itu dibuat. Penelitian pada berbagai jenis propolis

yang dilakukan, disebutkan bahwa propolis memiliki banyak kandungan di dalamnya baik yang berupa konstituen maupun bioaktif yang sangat beragam. Propolis memiliki aktifitas biologis yang dapat membantu meningkatkan daya tahan tubuh manusia. Aktifitas biologis tersebut antara lain sebagai anti-bakterial, anti-fungal, anti-protozoa, anti-viral, anti-oksidan dan anti-tumor, serta beragam aktifitas lainnya yang masih memerlukan penelitian lebih lanjut yaitu: sebagai anti-inflamasi, meningkatkan regenerasi jaringan, kegunaan sebagai imunogenik, detoksifikasi liver, hepatoprotektif, anti-ulkus, kardioprotektif, radioprotektif, anti-karies gigi dan lain sebagainya. Aktifitas biologi tersebut dihasilkan dari adanya kandungan senyawa flavonoid, asam aromatik, asam diterpenik dan fenolik (Fokt *et al.*, 2010).

Setiap aktifitas fisik akan menghasilkan radikal bebas, semakin tinggi intensitasnya makin banyak radikal bebas yang dihasilkan. Radikal bebas ini dapat dinetralsisir oleh anti-oksidan yang dihasilkan oleh sel darah putih yang merupakan bagian dari sistem kekebalan selular tubuh dan merupakan pertahanan terhadap semua hal yang dapat mengganggu homeostasis. Sistem kekebalan seluler terbentuk oleh adanya sel-sel darah putih yang dihasilkan oleh sumsum tulang. Pada orang dewasa sehat, jumlah sel darah putih berkisar 7000/ μ L, yang terdiri dari eosinofil 2,3%, basofil 0,4%, neutrofil 62%, limfosit 30,0% dan monosit 5,3% (Guyton, 2006). Radikal bebas yang terjadi pada aktifitas fisik berat dan berlebihan dapat menurunkan aktifitas maupun jumlah leukosit. Oleh karena itu, tubuh perlu mengkonsumsi baik antioksidan maupun bahan dasar antioksidan guna menetralsisir radikal bebas yang berlebihan, walaupun tubuh sendiri

mempunyai kemampuan untuk menghasilkan antioksidan dalam jumlah terbatas (Sugiharto *et al.*, 2012).

Deksametason adalah senyawa glukokortikoid sintetis dengan aktivitas immunosupresan dan anti-inflamasi. Deksametason bekerja dengan menurunkan respon imun tubuh terhadap stimulasi rangsangan sebagai immunosupresan. Aktivitas anti-inflamasi deksametason dengan jalan menekan atau mencegah respon jaringan terhadap proses inflamasi dan menghambat akumulasi sel yang mengalami inflamasi, termasuk makrofag dan leukosit pada tempat inflamasi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa deksametason dapat menyebabkan peningkatan pada hitung sel darah putih (white blood cell (WBC), *leukocytes*) dengan polimorfonuklear (PMN) merupakan jenis paling berkontribusi dalam hal tersebut. Peningkatan jumlah total sel darah putih diperkirakan karena terjadi proses *demargination* neutrofil dari permukaan endotel pembuluh darah, penundaan proses migrasi neutrofil ke dalam jaringan, penundaan proses apoptosis dan peningkatan pelepasan neutrofil dari sumsum tulang. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian deksametason akan menginduksi apoptosis pada jenis sel darah putih yang lain, yaitu basofil, eosinofil, monosit dan makrofag. Semua ini berkontribusi pada peningkatan neutrofil yang beredar dan tampak pada hitung WBC, namun tidak pada tingkatan yang sama antara satu dengan yang lain dimana proses *demargination* merupakan proses yang dominan.

Data tentang pengaruh imunogenik propolis diperlukan untuk menentukan pengaruh pemberian ekstrak propolis baik terhadap sistem imun seluler pada

kondisi normal maupun pada kondisi dimana sistem imun seluler tertekan akibat pemberian immunosupresan seperti obat deksametason. Peneliti mengajukan usulan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak propolis terhadap profil sel darah putih yang merupakan bagian dari sistem imun tubuh. Penggunaan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan oleh karena memiliki sistem imun yang hampir menyerupai manusia dan menghindari pengaruh estrus yang mungkin berpengaruh pada hasil penelitian.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak propolis mampu mengembalikan perubahan profil sel darah putih pada darah tikus putih yang diberi deksametason ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Menjelaskan pengaruh imunogenik pemberian ekstrak propolis terhadap perubahan profil sel darah putih (total leukosit, eosinofil, basofil, *band*, segmen, limfosit dan monosit) pada darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi deksametason.

1.3.2 Khusus

Membuktikan bahwa pemberian ekstrak propolis mampu mengembalikan perubahan profil sel darah putih (total leukosit, eosinofil, basofil, *band*, segmen, limfosit dan monosit) akibat pemberian deksametason.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat bagi ilmu pengetahuan:

Memberikan informasi tentang propolis/ sarang lebah yang dapat digunakan sebagai obat tradisional dan atau sebagai komplementer terhadap obat yang selama ini digunakan.

1.4.2 Manfaat bagi masyarakat:

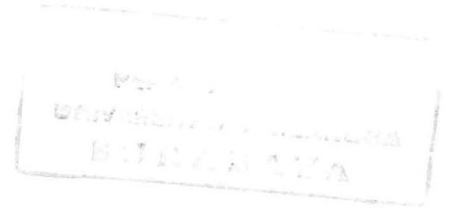
Manfaat bagi masyarakat umum, penelitian ini diharapkan dapat menjadi masukan berupa informasi tentang propolis/ sarang lebah dapat meningkatkan daya tahan tubuh dan baik dikonsumsi untuk menu sehari-hari.

Manfaat bagi petugas kesehatan, penelitian ini diharapkan dapat menjadi masukan berupa informasi tentang propolis/sarang lebah dapat meningkatkan daya tahan tubuh dan baik dikonsumsi untuk menu sehari-hari.

Manfaat bagi peneliti, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi masukan pada peneliti selanjutnya.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA



2.1 Sistem Kekebalan Tubuh

Tubuh manusia terpapar dengan bakteri, virus, jamur dan parasit sepanjang waktu. Agen infeksius ini mampu menyebabkan kelainan fungsi fisiologis yang serius atau bahkan kematian bila agen infeksius tersebut masuk ke jaringan yang lebih dalam. Tubuh manusia mempunyai sistem pertahanan khusus untuk mengatasi semua paparan infeksius tersebut, yaitu sel darah putih dan sel-sel yang berasal dari leukosit. Sistem pertahanan tubuh manusia secara umum dibagi menjadi dua bagian besar yaitu sistem pertahanan humoral dan sistem pertahanan seluler. Beberapa mekanisme yang dilakukan oleh sistem pertahanan tubuh tersebut adalah: (1) merusak bakteri atau virus yang menginvasi melalui proses fagositosis dan (2) dengan membentuk antibodi dan limfosit yang tersensitisasi. Salah satu atau keduanya dapat menghancurkan atau membuat agen infeksius menjadi tidak aktif (Guyton, 2006).

2.1.1 Sistem kekebalan seluler

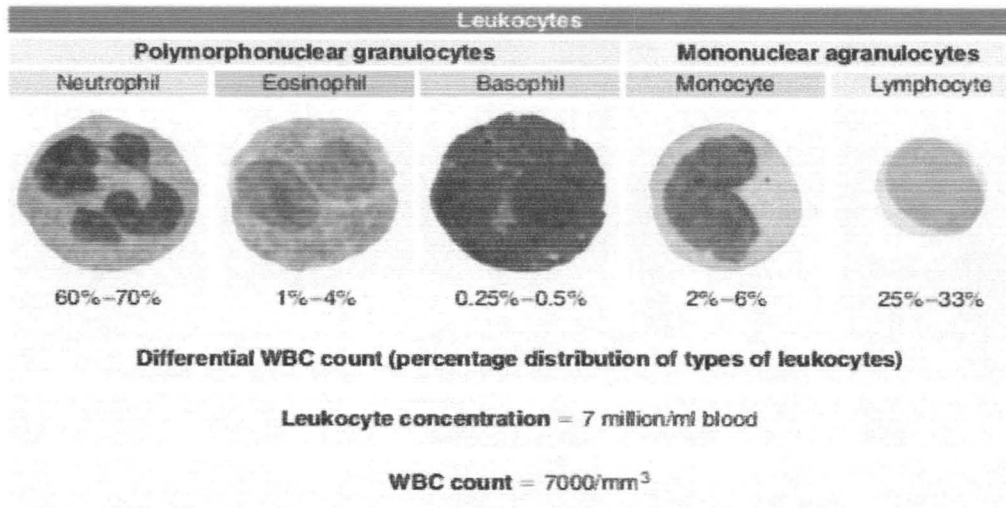
Pada kondisi normal, di dalam darah manusia terdapat sel darah putih yang bertugas untuk memberikan sistem pertahanan terhadap benda asing yang dapat mengganggu atau menginfeksi tubuh. Sel darah putih dibagi menjadi dua yaitu yang bergranula dan yang tidak bergranula. Sel darah putih yang bergranula adalah neutrofil, eosinofil dan basofil. Pada orang dewasa sehat, jumlah sel darah putih berkisar $7000/\mu\text{L}$, yang terdiri dari eosinofil 2,3%, basofil 0,4%, neutrofil 62%, limfosit 30,0% dan monosit 5,3% (Guyton, 2006). Ketika hitung WBC

dilakukan pada pasien, nilai laboratorium mencerminkan distribusi leukosit yang terdapat dan ikut serta dalam peredaran darah (sirkulasi) dan bukan di sumsum tulang, jaringan ataupun menempel pada lapisan endovaskular pembuluh darah. Dari data di atas, neutrofil merupakan bagian terbesar dari leukosit dalam jumlah total WBC dan dapat memiliki dampak terbesar pada perubahan dalam hitungan WBC (Busti *et al.*, 2009).

Eosinofil memiliki jalur produksi yang serupa dengan neutrofil, yaitu dipengaruhi oleh growth factor IL-5. Pada hapusan darah dan pewarnaan, kedua jenis sel tersebut ditandai dengan nukleus yang bilobus dan terdapat granula berwarna merah-oranye. Berfungsi terutama pada infeksi parasit dan kondisi alergi. Eosinofil dan neutrofil akan melepaskan isi granulnya (yang berisi histamin) pada infeksi parasit (misal: infeksi cacing) (Guyton, 2006).

Basofil merupakan jenis sel bergranula yang pada hapusan darah akan berwarna ungu gelap. Jumlahnya di darah perifer paling sedikit. Granulanya mengandung histamin dan heparin yang akan dilepaskan bila ada ikatan dengan reseptor IgE yang terletak di permukaannya (Guyton, 2006).

Neutrofil merupakan sel yang paling banyak diantara ketiga jenis sel darah putih di perifer. Memiliki masa hidup sekitar 10 jam di dalam sirkulasi. Hampir setengah (50%) dari jumlah neutrofil yang beredar menempel pada dinding pembuluh darah (diistilahkan "*marginating pool*"). Mereka akan bermigrasi untuk merespon faktor kemotaktik dengan menggunakan molekul adhesi yang berinteraksi dengan dinding endotelium. Neutrofil menjalankan fungsinya dengan



Gambar 2.1 Hitung jenis sel darah putih normal (Sherwood, 2010)

cara fagositosis dan degranulasi serta proses metabolik yang dapat membunuh kuman (Guyton, 2006). Neutrofil juga disebut sebagai leukosit polimorfonuklear (PMN) oleh karena banyak tahapan yang mereka lalui. Neutrofil dirilis dari sumsum tulang sebagai neutrofil matang yang *non-segmented*, dimana inti berbentuk seperti pita. Dengan neutrofil demikian ini disebut "*band*". Peningkatan jumlah neutrofil yang belum matang ini dalam sirkulasi dapat menjadi indikasi terjadinya infeksi bakteri dan mereka dipanggil untuk memberikan perlawanan. Bilamana hal ini terlihat biasanya disebut sebagai "pergeseran ke kiri (*shift to the left*)" pada hitung WBC. Setelah neutrofil yang belum matang menjadi aktif atau terpapar bakteri patogen, inti mereka akan tersegmentasi (Busti *et al.*, 2009).

Jenis sel darah putih yang tidak bergranula terdiri dari limfosit dan monosit. Limfosit merupakan komponen respon imun yang berasal dari stem sel. Pada proses diferensiasi dan proliferasinya akan terbagi menjadi dua yaitu limfosit B (yang mengalami proses pematangan di sumsum tulang (*bone marrow*)) dan

limfosit T (yang mengalami proses pematangan di kelenjar Timus). Respon imun yang terjadi merupakan hasil kerja sama limfosit B dan T serta APC (antigen presenting cells). Limfosit B akan menghasilkan imunoglobulin. Limfosit T terdiri dari 3 jenis yaitu sel helper, sel supresor dan sel sitotoksik. Baik limfosit B maupun T akan berhubungan pada MHC saat melaksanakan fungsinya. Sel NK (*Natural Killer cell*) merupakan jenis limfosit yang dihasilkan dari sumsum tulang dan dimatangkan di organ timus, serta menampilkan CD8⁺ dan memiliki *prominent-large* granula. Limfosit digolongkan sebagai ADCC (*antibody-dependent cellular cytotoxicity*) oleh karena tidak tergantung MHC (*major histocompatibility complex*) saat menjalankan fungsinya, dan dapat berikatan langsung dengan sel target bilamana terdapat antibodi yang terikat pada antigen sel tersebut (Guyton, 2006).

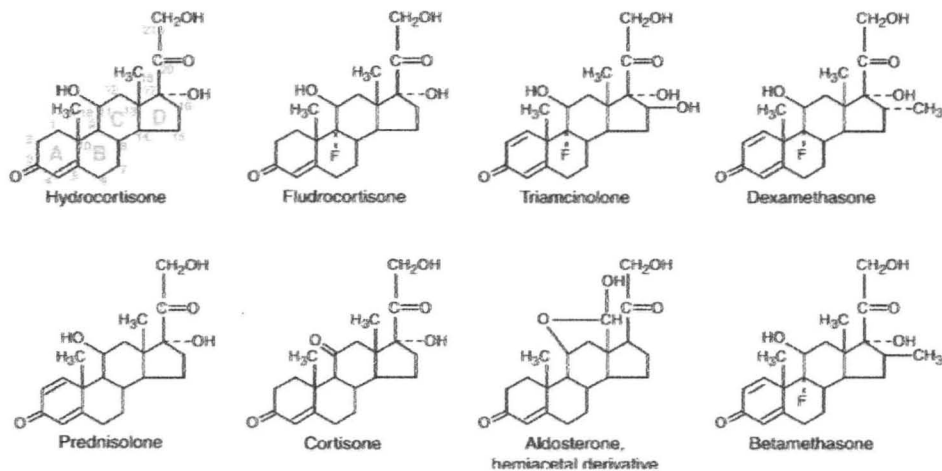
Sel monosit akan beredar di sirkulasi selama 20 hingga 40 jam untuk kemudian memasuki jaringan sebagai makrofag jaringan dimana mereka menjadi matang dan melaksanakan fungsi utamanya. Di jaringan, sel makrofag akan bertahan hidup selama beberapa hari hingga bulan. Pada pewarnaan hapusan darah perifer, bersifat mononuklear, dengan sitoplasma keabu-abuan dengan vakuola dan granula kecil (Guyton, 2006).

2.2 Deksametason

2.2.1 Struktur molekul

Deksametason merupakan senyawa sintetik adrenokortikal, yang merupakan bubuk kristalin yang berwarna putih dan tidak berbau, serta tidak larut

dalam air. Memiliki rumus molekul $C_{22}H_{29}FO_5$ dengan berat molekul 392,4611. Deksametason merupakan molekul kecil berbentuk seperti dalam gambar 2.2, yang memiliki sifat sebagai anti-inflamasi, adrenergik, antiemetik, antineoplastik, hormonal (Melmed *et al.*, 2011).



Gambar 2.2 Beberapa senyawa yang termasuk golongan 'Glukokortikoid' (Brunton *et al.*, 2008)

2.2.2 Efek pemberian glukokortikoid pada sistem imun selular.

Data yang ada menyebutkan bahwa neutrofil merupakan bagian terbesar dari leukosit dalam jumlah total WBC dan dapat memiliki dampak terbesar pada perubahan dalam hitungan WBC. Setelah neutrofil yang belum matang menjadi aktif atau terpapar bakteri patogen, inti mereka akan tersegmentasi (Busti *et al.*, 2009). Pada pemberian glukokortikoid sintesis, akan menginduksi peningkatan jumlah WBC diakibatkan oleh proses *demargination* neutrofil dari permukaan endotel pembuluh darah, penundaan proses migrasi neutrofil ke dalam jaringan, penundaan proses apoptosis dan peningkatan pelepasan neutrofil dari sumsum

tulang. Semua ini berkontribusi pada peningkatan neutrofil yang beredar dan tampak pada hitung WBC, namun tidak pada tingkatan yang sama antara satu dengan yang lain (catatan: proses demargination merupakan proses yang mendominasi). Beberapa penelitian telah menunjukkan adanya peningkatan hitung WBC hingga lebih dari 20.000 /mm³ yang timbul pada hari pertama dan mencapai tingkat maksimum pada sekitar dua minggu. Sementara kenaikan rata-rata hitung WBC telah dilaporkan menjadi sekitar 4.000 / mm³ pada pasien yang memakai 40-80 mg prednison per oral, namun ada kemungkinan terdapat variabilitas yang tinggi berhubungan dengan dosis glucocorticoid. Mengetahui secara tepat tingkat kenaikan jumlah WBC sangat penting agar dapat mengobati dengan lebih tepat. Faktor yang diduga berkontribusi menyebabkan leukositosis (peningkatan hitung sel darah putih) pada pemberian glukokortikoid adalah adanya proses *demargination* neutrofil (leukosit polimorfonuklear, PMN) dari lapisan endotel pembuluh darah ke dalam sirkulasi umum. Sekitar 61% dari peningkatan jumlah WBC berasal dari efek biologis penggunaan glukokortikoid dan dapat diamati dalam waktu 5-24 jam inisiasi. Sebagaimana diketahui, neutrofil berada di sejumlah tempat, dimana dua kompartemen yang paling berhubungan dengan masalah ini adalah kompartemen marginal (yaitu neutrofil yang melekat pada endotel pembuluh darah) dan kompartemen beredar (neutrofil yang bersirkulasi di pembuluh darah bersama dengan sel-sel darah lain). Perbedaan ini penting karena neutrofil berlalu-lalang dari dan ke permukaan endotel, sementara neutrofil yang melekat pada lumen pembuluh darah tidak tercermin dalam hitung WBC dan hanya PMN yang beredar secara bebas dalam

kompartemen peredaran darah yang akan ditemukan dalam sampel darah vena yang digunakan untuk analisis. Segala sesuatu yang menyebabkan neutrofil marginal melepaskan diri dari permukaan endotel dinding pembuluh darah dan ikut dalam peredaran darah akan menghasilkan konsentrasi neutrofil yang lebih besar dan dengan demikian meningkatkan jumlah WBC. Glukokortikoid telah diketahui dapat menyebabkan hal ini (Busti *et al*, 2009).

Neutrofil, baik *band* maupun segmen, pada kondisi normal akan mengekspresikan molekul adhesi permukaan sel yang disebut L-selektin (CD26L) yang berkontribusi terhadap pembentukan ikatan karbohidrat-protein non-permanen pada permukaan sel-sel endotel yang melapisi dinding pembuluh darah. Molekul-molekul adhesi selektin tidak berinteraksi erat dengan molekul protein pada permukaan endotel dan hal ini menjelaskan kemampuan neutrofil untuk melintas dengan cepat sepanjang permukaan endotel dan ber-transmigrasi hingga ke jaringan untuk melawan infeksi. L-selektin dapat menghilang dengan cepat agar neutrofil dapat berjalan (*rolling*) sepanjang permukaan endotel pembuluh darah. L-selektin terus-menerus dibelah oleh membran terkait *sistein metalloproteinase* (juga dikenal sebagai *shedase*). Penggantian L-selektin di permukaan membran sel neutrofil tergantung pada kemampuan proses transkripsi gen untuk membuat lebih banyak L-selektin yang kemudian diterjemahkan, dikemas dan siap untuk transportasi ke permukaan sel menggantikan L-selectin. Jika ini tidak terjadi, maka ikatan karbohidrat-protein non-permanen atau terikat longgar akan menurun dan akhirnya tidak cukup untuk menjaga neutrofil menempel pada permukaan endotel dan dengan demikian demargination ke dalam

kompartemen peredaran darah akan terjadi. Oleh karena itu, adanya glukokortikoid akan menghambat transkripsi gen dari L-selektin sehingga tidak terdapat pengganti L-selektin yang telah terpakai dan dengan demikian mengurangi kemampuan neutrofil untuk berinteraksi dengan endotel (Busti *et al*, 2009).

Cara kerja glukokortikoid menonaktifkan transkripsi gen untuk L-selektin masih belum diketahui. Namun, glukokortikoid sangat terkenal untuk mengikat reseptor glukokortikoid (khususnya GR- α) yang ditemukan dalam sitoplasma neutrophil, sehingga setelah terikat akan menghasilkan kompleks “glukokortikoid/GR” dalam perubahan konformasi yang mengakibatkan disosiasi protein lain yang membebaskan kompleks glukokortikoid/GR untuk masuk ke dalam inti. Di dalam inti, kompleks tersebut akan mengikat unsur-unsur responsif glukokortikoid (GRE) di wilayah tepat di atas target gen (L-selektin) akan menyalakan transkripsi gen atau menghambat hal tersebut. Hambatan terjadi karena tingkat mRNA untuk L-selektin yang menurun pada pemberian/ penggunaan glukokortikoid. Hal ini menjelaskan proses hilangnya L-selektin secara progresif setelah 5-24 jam pemberian (proses ini tidak terjadi dengan segera) glukokortikoid dan bertepatan dengan kenaikan PMN dalam hitungan WBC (Busti *et al*, 2009).

Eosinofil merupakan sel yang dihasilkan dari sumsum tulang dan memegang peranan penting pada peradangan alergi. Jenis sel ini akan mampu bertahan melalui proses autokrin dengan memproduksi GM-CSF yang dirangsang produksinya oleh TNF- α yang dihasilkan dari turunan sel mast. Pada pemberian deksametason (atau golongan glukokortikoid lainnya) akan menghambat sekresi

sitokin yang pada proses selanjutnya menurunkan peradangan. Penghambatan sekresi sitokin ini terjadi melalui penghambatan GM-CSF dan IL-8 saat sel eosinofil teraktivasi oleh TNF- α dihambat oleh NF-kappaB. Penelitian Uings I *et al.* (2005), menunjukkan bahwa deksametason gagal menghambat kerja pelepasan ECP oleh TNF- α . Pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian deksametason memicu terjadinya apoptosis. Pemberian deksametason akan mengakibatkan monosit dan makrofag, sebagai sel yang memegang peranan kunci pada reaksi inflamasi, mengalami proses apoptosis melalui dua jalur yang berbeda, baik jalur NF-kappaB / XIAP maupun jalur Ras/MEK/ERK/CD95 (Ottonello *et al.*, 2005).

Pengaruh induksi apoptosis juga terjadi pada sel eosinofil dan basofil. Pada limfosit T, deksametason akan menginduksi terjadinya apoptosis, sementara pada limfosit B, proses induksi apoptosis akan bergantung pada dosis yang diberikan dan tingkat kematangan sel (Melmed *et al.*, 2011).

2.3 Ekstrak Propolis

Indonesia memiliki sekitar 30.000 jenis tanaman, 950 jenis diantaranya memiliki fungsi penyembuhan (Idward, 2011). Salah satu obat tradisional yang saat ini sedang berkembang di masyarakat adalah propolis. Propolis merupakan salah satu produk perlebahan yang merupakan bagian dari sarang lebah.

Propolis merupakan kata Yunani yang terdiri dari kata *Pro* (=sebelum) dan *Polis* (=kota, komunitas), secara harafiah diartikan sebagai “sebelum masuk sarang lebah”. Propolis merupakan produk lebah yang digunakan sebagai

pelindung sarang lebah dari hal-hal di luar sarang agar supaya sarang dan isinya yang mengandung koloni larva lebah madu terlindungi dari bahaya dan senantiasa bersih steril dengan tujuan agar telur dapat menetas dan berkembang dengan sempurna. Propolis adalah suatu substrat getah (resin) yang dihasilkan dan merembes keluar dari tunas daun, batang melalui kulit kayu tumbuhan jenis *Conifer* (golongan pinus, cemara), sedangkan propolis lebah adalah getah pohon yang dikumpulkan oleh lebah dari batang pohon, dicampur zat yang disekresi dari kelenjar ludahnya sehingga menjadi campuran resin alami. Zat ini digunakan sebagai lapisan pelindung utama pada sarang terhadap serangan virus dan bakteri (Wagh, 2013). Nama lain propolis adalah "*bee glue*".

2.3.1 Riwayat penggunaan propolis

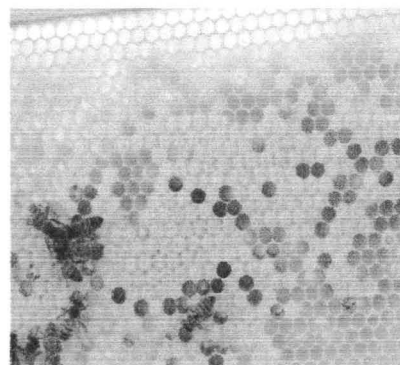
Sejak jaman dulu, propolis telah digunakan oleh manusia, khususnya dalam pengobatan kuno untuk merawat kondisi *maladies* atau kelelahan. Orang mesir menggunakan *bee glue* ini untuk proses pengawetan jenazah oleh karena sifat *putrefactive*-nya. Di jaman Yunani dan Romawi, para tabib menggunakannya sebagai desinfektan oral dan sebagai antiseptik serta penyembuhan luka, dengan cara dioleskan pada luka di kulit dan mukosa. Di Italia, *bee glue* digunakan sebagai *varnish* biola oleh *Stradivari*. Propolis telah terdaftar sebagai obat di farmakologi London sejak abad ke -17 dan dikenal karena memiliki aktivitas anti-bakterial. Pada akhir abad ke -19, propolis telah digunakan secara luas karena dapat menyembuhkan luka dan pada perang dunia kedua telah digunakan oleh beberapa klinik di Uni-Soviet (sekarang Rusia) untuk pengobatan tuberkulosis. Di beberapa daerah Balkan, propolis digunakan untuk merawat luka terbuka dan luka

bakar, *sore throat* dan ulkus gastrik. Penelitian ilmiah tentang propolis pertama kali dipublikasikan pada tahun 1908 meliputi kandungan senyawa dan komposisinya (Wagh, 2013).

Propolis merupakan ramuan alami yang hingga kini dapat ditemukan pada toko makanan kesehatan dalam beragam sediaan untuk digunakan secara topikal. Propolis juga digunakan untuk kosmetik atau pengobatan alternatif untuk mengobati beragam penyakit. Aplikasi saat ini meliputi formulasi untuk sindrom cold (ISPA, *common cold*, dan infeksi yang menyerupai flu), preparat dermatologikal untuk menyembuhkan luka, perawatan luka bakar, jerawat, *herpes simpleks* dan genital, serta *neurodermatitis*. Propolis juga digunakan sebagai obat kumur, makanan kesehatan dan pasta gigi untuk mencegah karies gigi, mengobati gingivitis dan stomatitis. Propolis tersedia dalam kemasan kapsul, obat kumur, krim, tablet hisap dan bedak (Wagh, 2013).

2.3.2 Karakteristik dan kandungan bioaktif propolis lebah

Karakteristik propolis seringkali digambarkan sebagai bahan yang pada kondisi alami bersifat lipofilik, keras dan *brittle*, yang akan menjadi lunak, *pliable* dan *gummy* serta lengkat bila dipanaskan. Memiliki aroma bau yang menyenangkan dengan beragam warna mulai dari kuning kemerahan atau kecoklatan tergantung pada sumber dan usianya. Hal ini juga tergantung darimana asal resin dikumpulkan. Beberapa melaporkan adanya propolis yang berwarna



Gambar 2.3 Propolis

putih bening (Busti *et al*, 2009; Wagh, 2013).

Propolis merupakan campuran yang kompleks tergantung dari sekresi lebah dan jenis tanaman yang dikumpulkan. Komposisi propolis mentah terdiri dari 50% resin, 30% *wax*/ lilin, 10% minyak esensial, 5% polen dan 5% senyawa organik. Propolis merupakan bahan yang lunak, lembut-liat dan lengket pada suhu ruang (25 °C – 40 °C). Pada kondisi membeku, akan bersifat keras dan rapuh. Dan akan tetap rapuh setelah diproses dengan cara tertentu pada suhu yang lebih tinggi. Suhu di atas 45 °C, propolis akan sangat lengket dan bergetah. Pada suhu 60 °C hingga 70 °C, propolis akan mencair, namun beberapa sampel akan mencair pada suhu yang lebih tinggi, sekitar 100 °C (Fokt *et al*, 2010). Hingga saat ini telah teridentifikasi lebih dari 300 senyawa-senyawa alami kompleks yang terkandung dalam propolis dengan elemen gizi yang bervariasi, dan masih banyak senyawa baru yang masih ditemukan dan diteliti. Proporsi senyawa yang terkandung dalam propolis tergantung pada tempat dimana propolis diambil serta saat proses pengumpulan, sehingga propolis yang dikumpulkan dari satu daerah akan menunjukkan komposisi yang berbeda di daerah lain serta memiliki aktivitas biologis yang beragam dikarenakan perbedaan kondisi iklim di masing-masing daerah tersebut (Fokt *et al*, 2010).

Kelarutan propolis. Propolis diekstrak secara komersial dengan bahan pelarut tertentu. Bahan pelarut yang sering digunakan untuk proses ekstraksi tersebut adalah air, metanol, etanol, kloroform, *dichloromethane*, eter dan aseton. Beberapa komponen yang bersifat anti-bakteri (bakterisidal) akan larut dalam air atau alkohol, dan menghilangkan material yang bersifat inert untuk

mempertahankan komposisi yang diinginkan. Komposisi propolis akan mempengaruhi penentuan jenis bahan pelarut dan metode untuk mengekstraksi sebagaimana tampak pada tabel 2.1.

Beberapa metode analisa telah digunakan untuk memisahkan dan mengidentifikasi penyusun propolis, namun secara umum dikatakan bahwa penyusun propolis dapat digolongkan sebagai berikut: 1) *poliphenol*, 2) asam benzoat dan turunannya, 3) *cinnamic alcohol* dan *cinamic acid* serta turunannya, 4) asam-asam lain beserta turunannya, 5) alkohol, keton dan senyawa hetero-aromatik, 6) *terpene* dan *sesquiterpene alcohol* serta turunannya, 7) *aliphatic hydrocarbon*, 8) mineral, 9) sterol dan steroid hidrokarbon (Wagh, 2013).

Tabel 2.1 Perbandingan komposisi propolis di beberapa daerah.

Jenis propolis	Asal geografis	Sumber tanaman	Kandungan bioaktif utama
<i>Poplar</i>	Eropa, Amerika Utara, Asia non-tropis.	<i>Populus spp.</i> , (terbanyak: <i>P. nigra L.</i>)	<i>Flavone, flavanones, phenolic acid dan esternya</i>
<i>Birch</i>	Rusia	<i>Betula verrucosa Ehrh.</i>	<i>Flavone dan flavanol</i> (yang berbeda dengan jenis poplar)
<i>Green (rosemary)</i>	Brazil	<i>Baccharis spp.</i> , <i>predominantly B. dracunculifolia DC.</i>	<i>Prenylated p-coumaric acids, diterpanic acids</i>
<i>Red (clusia)</i>	Kuba, Venezuela	<i>Clusia spp.</i>	<i>Polyprenylated benzophenones</i>
" <i>Pasific</i> "	Pasifik (Okinawa, Taiwan)	Belum diketahui	<i>C-prenylflavanones</i>
" <i>Canarian</i> "	Kepulauan Canary	Belum diketahui	<i>Furofuran lignans</i>

2.3.3 Cara kerja propolis lebah terhadap tubuh manusia

Propolis memiliki sistem kerja yang berbeda dari produk perlembaan lainnya, yaitu propolis langsung melakukan perbaikan terhadap sistem kekebalan tubuh (imunitas), dan mencegah terjadinya infeksi lebih lanjut sehingga dapat dikatakan bahwa propolis bekerja sebagai pembangun benteng pertahanan tubuh. Karena itu sangat baik bila dikonsumsi secara rutin. Dalam berbagai penelitian yang telah dilakukan, dikatakan bahwa propolis memiliki aktivitas sebagai berikut: 1) anti-oksidan, 2) anti-bakterial, 3) anti-fungal, 4) anti-protozoa, 5) anti-tumor, 6) anti-inflamasi, 7) proteksi liver, 8) imunostimulan.

1) Aktivitas anti-oksidan. Sejauh ini aktivitas anti-oksidan merupakan yang pertama kali dilaporkan dari ekstrak propolis india dengan kandungan zat kimia pinocembrin dan galangin. Pada semua sistem pemeriksaan anti-oksidan yang ada, baik *Aqueous extract of propolis (AEP)* maupun *ethanolic extract of propolis (EEP)*, yang mungkin dikarenakan kandungan *polyphenol* yang lebih tinggi. Jadi, AEP dapat menggantikan ethanol extract. Lebih lanjut, AEP dapat digunakan untuk mencegah beragam radikal bebas seperti pada penyakit. Galangin juga menunjukkan aktivitas yang sebanding antara AEP ataupun EEP dan memiliki aktivitas tertinggi dibandingkan pinocembrin. Hal ini dikarenakan perbedaan struktur keduanya. Pada penelitian tentang propolis, telah dipastikan bahwa efek scavenging dari propolis terhadap radikal bebas adalah setara dengan vitamin C pada 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH).

2) anti-bakterial. Banyak penelitian yang menunjukkan adanya aktivitas propolis untuk membunuh bakteri gram positif namun hanya sedikit pada bakteri

gram negatif. Pada penelitian oleh Ugur dan Arslan (2004) dikatakan bahwa aktivitas anti bakteri akan tergantung dari jenis propolis, dosis propolis dan jenis bahan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi.

3) anti-fungal. Masih dalam penelitian.

4) anti-protozoa. Pernah dilaporkan tentang terdapatnya senyawa EEP dan DEP yang bersifat aktif terhadap *Trypanosoma cruzi* (Salomão *et al.*, 2011) dan *Giardia lamblia* (Torres *et al.*, 1990)

5) anti-tumor. Senyawa artelillin C yang telah diekstrak dari propolis brazil merupakan senyawa dengan berat molekul 300,40 dan memiliki aktivitas sitotoksik pada sel-sel tumor baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

6) anti-inflamasi. Inflamasi merupakan respon biologis yang kompleks pada jaringan pembuluh darah terhadap rangsangan yang membahayakan seperti patogen, sel rusak, iritan dan radikal bebas. Aktivitas anti-inflamasi merupakan sarana pertama dalam sistem pertahanan tubuh. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa propolis memiliki efek penghambatan pada aktivitas *myeloperoxidase*, *NADPH-oxidase*, *ornithine decarboxylase*, tirosin-protein-kinase, dan hyaluronidase pada sel mast *guinea pig*. Aktivitas ini dapat terjadi oleh adanya flavonoid aktif dan turunan *cinnamic acid* (yang terdiri dari acacetin, quercetin dan naringenin, yang belakangan juga meliputi *Caffeic Acid Phenethyl Ester* (CAPE) dan *Caffeic Acid* (CA)). Baik CAPE dan galangin, keduanya biasa ditemukan di propolis jenis poplar, menghasilkan efek anti-inflamasi dan menghambat carrageenan oedema, carrageenan pleurisy dan inflamasi arthritis pada tikus secara bermakna. Sebuah ekstrak etanol propolis akan menekan

produksi prostaglandin dan leukotrin pada sel makrofag di peritoneal tikus secara in-vitro. Konsumsi propolis akan menekan secara bermakna pada jalur *lipooxygenase* dari metabolisme asam arakidonat selama proses inflamasi secara in-vivo. CAPE merupakan modulator yang lebih poten terhadap metabolisme asam arachidonat dibandingkan *Caffeic Acid (CA)*, *quercetin* dan *naringenin*.

7) proteksi liver dan imunostimulan. Masih dalam penelitian (Wagh, 2013).

2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

2.4.1 Taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Mencit merupakan hewan mamalia yang diklasifikasikan ke dalam Kingdom (*Animalia*), Filum (*Chordata*), Kelas (*Mammalia*), Ordo (*Rodentia*), Famili (*Muridae*), Sub-family (*Murinae*), Genus (*Rattus*), Spesies (*Rattus norvegicus*) (Sugiyanto, 1995)

2.4.2 Sifat-sifat tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih memilih makanan berdasarkan kandungan gizinya dan memilih makanan yang rendah karbohidrat (Ofusori and Martins, 2008). Tikus putih memiliki temperatur tubuh 36-39 °C, frekuensi jantung 330-480 kali/ menit, frekuensi pernafasan 65-115 kali/ menit, berat badan jantan dewasa 300-400 gram, sedangkan yang betina memiliki berat badan 250-300 gram, konsumsi air 24-60 ml/ hari atau 10-12 ml/100 gram berat badan tiap hari, konsumsi makanan berupa pelet 15-30 gram/ hari atau sekitar 5-6 gram/ 100 gram berat badan (Smith *et al.*, 1988). Leukogram tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar dewasa dapat

dilihat pada tabel 2.2 sebagai berikut:

Tabel 2.2 Leukogram tikus putih wistar (Fische, 2013)

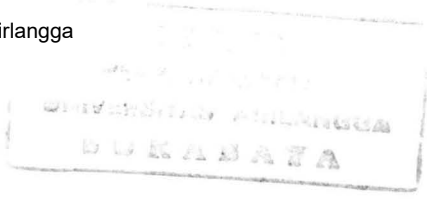
Sel darah putih		Wistar jantan	Range
Leukosit	($10^9/l$)	15,30	11,60 – 19,00
Eosinofil	($10^9/l$)	0,21	0,11 – 0,31
Basofil	($10^9/l$)	0,08	0,00 – 0,17
Neutrofil	($10^9/l$)	2,60	1,70 – 3,50
Limfosit	($10^9/l$)	11,97	8,83 – 15,11
Monosit	($10^9/l$)	0,36	0,23 – 0,49

Pemberian materi baik padat maupun cair dapat dilakukan dengan menggunakan sonde melalui oesofagus dengan volume maksimal yang dapat diberikan per oral pada tikus putih dewasa adalah sebanyak 5 mL (Kusumawati, 2004).

2.4.3 Konversi perhitungan dosis pada tikus

Tabel 2.3 Konversi perhitungan dosis untuk beberapa jenis hewan dan manusia (Kusumawati, 2004)

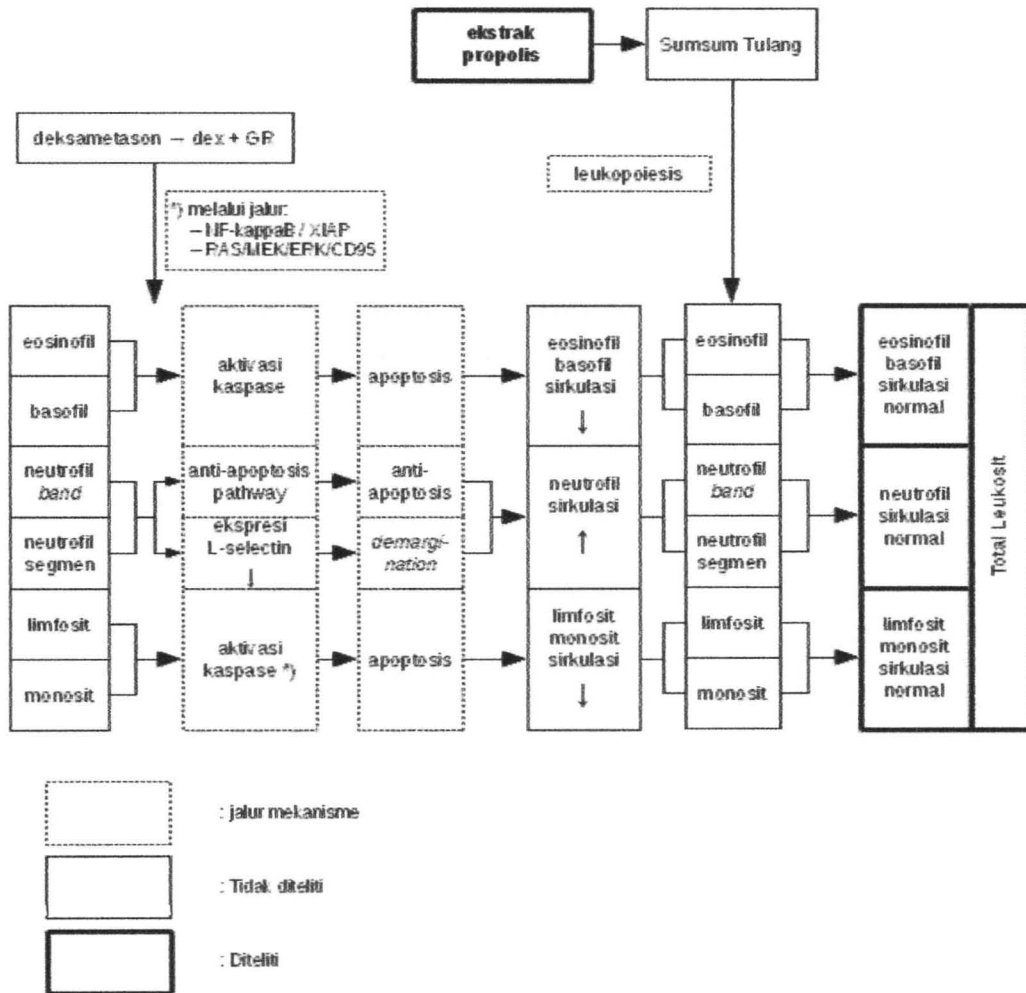
	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 Kg	Kucing 2 Kg	Kera 4 Kg	Anjing 12 Kg	Manusia 70 Kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	2,25	27,8	29,7	64,1	124,2	187,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Kelinci 1,5 Kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Manusia 70 Kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0



BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka konseptual penelitian

Keterangan:

- GR : *Glucocorticoid Receptor*
- NF-kappa B : *Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*
- XIAP : *X-linked Inhibitor Apoptosis Protein*
- Ras : salah satu keluarga *GTPase*
- MEK : *Methyl Ethyl Ketone (Butanone)*
- ERK : *ekstracellular signal-regulated kinases.*

3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual

Pada kondisi normal, sel darah putih dihasilkan oleh sumsum tulang dan terdiri dari sel eosinofil, basofil, neutrofil (*band* dan segmen), limfosit dan monosit. Keberadaan sel darah putih setelah dilepaskan dari sumsum tulang dapat dibagi menjadi tiga bagian yaitu sel darah putih yang ikut beredar dalam sirkulasi darah, sel darah putih yang tidak ikut beredar di sirkulasi namun menempel pada dinding pembuluh darah (*demargination*). Sel darah putih yang tidak turut beredar di sirkulasi merupakan awal dari proses diapedisis untuk menunjang fungsi sistem kekebalan oleh sel darah putih lain yang telah berada di jaringan.

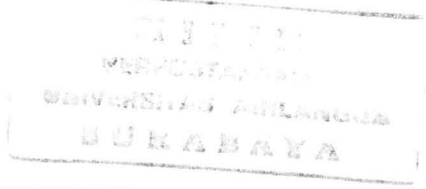
Pemberian deksametason akan menyebabkan perubahan pada masing-masing jenis sel darah putih. Perubahan tersebut meliputi peningkatan jumlah sel neutrofil oleh karena penurunan mekanisme marginasi sel neutrofil melalui mekanisme penurunan ekspresi dan produksi L-selektin. Selain itu neutrofil akan hidup lebih lama oleh karena adanya sintesis *XIAP* (*X-linked Inhibitor Apoptosis Protein*) yang akan menurunkan aktivasi kaspase dan menunda terjadinya apoptosis. Hal ini menyebabkan neutrofil yang ikut beredar dalam sirkulasi darah akan mengalami peningkatan. Pemberian deksametason akan memberikan pengaruh yang berbeda pada jenis sel darah putih yang lain (eosinofil, basofil, limfosit dan monosit) yaitu akan mengalami apoptosis. Sehingga jenis sel darah putih tersebut akan mengalami penurunan jumlah yang beredar dalam sirkulasi.

Diharapkan pada pemberian ekstrak propolis, yang memiliki efek imunogenik mampu merangsang sumsum tulang agar dapat meningkatkan proses

leukopoiesis / proses pembentukan sel-sel darah putih dan mengembalikan jumlah total leukosit dan hitung sel darah putih kembali ke nilai normal.

3.3 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak propolis setelah diberi deksametason pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan akan mengubah kembali profil leukosit yang meliputi total leukosit, eosinofil, basofil, *band*, segmen, limfosit dan monosit.

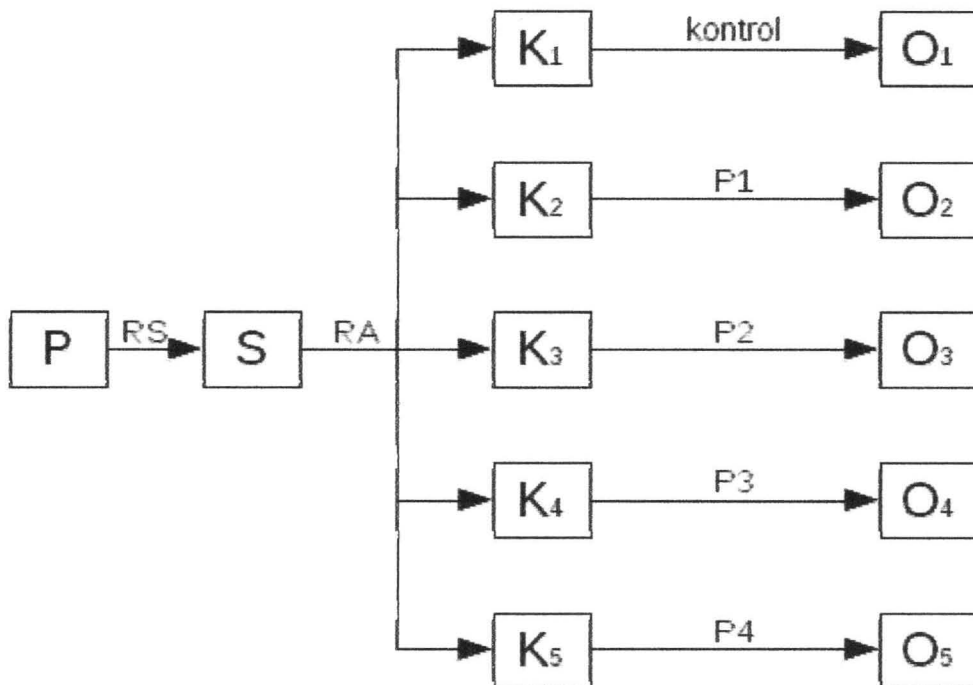


BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan merupakan penelitian eksperimental yang dengan menggunakan rancangan *randomised post test only control group design* (Zainuddin, 2000).



Gambar 4.1 Desain penelitian

Keterangan :

- P : populasi.
- S : sampel.
- RS : *random sampling*.
- RA : *random allocation*.
- K1 : Kelompok kontrol, hanya diberi diet standar.
- K2 : Kelompok perlakuan diberi deksametason.
- K3 : Kelompok perlakuan diberi ekstrak propolis.
- K4 : Kelompok perlakuan diberi deksametason dan ekstrak propolis.
- K5 : Kelompok perlakuan diberi deksametason dan ekstrak propolis dengan dosis dua kali lipat

- P1 : Perlakuan berupa pemberian diet standar dan deksametason.
 P2 : Perlakuan berupa pemberian diet standar dan ekstrak propolis.
 P3 : Perlakuan berupa pemberian diet standar dan deksametason dilanjutkan dengan diet standar dan ekstrak propolis.
 P4 : Perlakuan berupa pemberian diet standar dan deksametason dilanjutkan diet standar dan ekstrak propolis dengan dosis dua kali lipat (dd)

4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Tehnik Pengambilan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) berjenis kelamin jantan dewasa.

4.2.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) berjenis kelamin jantan dewasa, usia 3 bulan dan dalam kondisi sehat dan memiliki berat \pm 200 gram yang ada di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya sebanyak 25 ekor.

Kriteria kondisi sehat pada sampel adalah sehat fisik yang ditandai dengan ciri-ciri bermata jernih, kulit dan rambut putih mengkilap, gerakan lincah dan fesesnya baik atau tidak lembek.

4.2.3 Besar sampel

Besar sampel yang terbagi dalam 5 kelompok ditentukan berdasarkan rumus dari Federer (Federer, 1991) :

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

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

$$r \geq 4,75$$

Keterangan :

t : Jumlah kelompok

r : Jumlah replikasi, ulangan

Jumlah replikasi minimal per kelompok adalah 5 (hasil dibulatkan). Dalam penelitian ini kemungkinan bisa terjadi kesalahan yang menyebabkan hewan coba mati sangat kecil oleh karena menggunakan bahan yang telah lazim digunakan sehingga tidak memerlukan koreksi sebesar 10%. Dengan demikian pada penelitian ini besar sampel 5 ekor per kelompok, dengan jumlah sampel keseluruhan 25 ekor.

4.2.4 Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan cara *simple random sampling*, dengan cara mengundi setiap tikus yang terlebih dahulu diberi nomor (Sugiyono, 2007).

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas terdiri dari deksametason dan ekstrak propolis.

4.3.2 Variabel tergantung

Variabel tergantung yaitu total leukosit, hitung jenis sel darah putih (yang terdiri dari basofil, eosinofil, neutrofil, limfosit dan monosit) pada darah tikus putih.

4.3.3 Variabel kendali

Variabel kendali pada penelitian ini adalah umur, pakan pelet, minum air mineral kemasan, jenis kelamin, berat badan hewan coba.

4.4 Definisi Operasional Variabel

Tabel 4.1. Definisi operasional variabel.

No.	Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Alat ukur	Skala
1.	Variabel bebas (<i>independent</i>)				
	1. Deksametason	Senyawa glikokortikoid sintetis yang dibuat oleh pabrik farmasi dan dibeli di apotek. Dosis adalah jumlah serbuk deksametason yang diberikan per oral (sonde) pada kelompok 3	Serbuk yang dibuat dari pil deksametason yang diukur dengan timbangan digital dengan satuan miligram. Dosis: 9,0 µg/ kali/200g tikus	µg/ gram BB tikus/ hari	Rasio
	2. Propolis	Serbuk sarang lebah dari Brazil, yang diolah dan di produksi dalam bentuk kapsul oleh <i>CC. Pollen Company</i> dan dipasarkan oleh PT. HD-Indonesia Dosis adalah jumlah serbuk propolis yang diberikan per oral (sonde) pada kelompok 2 dan 4	Serbuk sarang lebah yang diukur dengan timbangan dengan satuan miligram Dosis: 1,8 mg/ 200g tikus	mg/ 200g BB tikus/ hari	Rasio

No.	Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Alat ukur	Skala
3.	Propolis (dd)	Serbuk sarang lebah dari Brazil, yang diolah dan di produksi dalam bentuk kapsul oleh <i>CC. Pollen Company</i> dan dipasarkan oleh PT. HD-Indonesia Dosis adalah jumlah serbuk propolis dua kali dosis variabel (1.2.) yang diberikan per oral (sonde) pada kelompok 5	Serbuk sarang lebah yang diukur dengan timbangan dengan satuan miligram Dosis: 3,6 mg/ 200g tikus	mg/ 200g BB tikus/ hari	Rasio
2.	Variabel tergantung (dependent)				
1.	Total leukosit	Jumlah total sel darah putih yang diperoleh dari hasil pengukuran dengan menggunakan alat SYSMEX-XT2000i	Pengukuran dengan alat SYSMEX-XT2000i	persen	Rasio
2.	Basofil	Persentase basofil yang diperoleh dari hasil pengukuran dengan menggunakan alat SYSMEX-XT2000i	Pengukuran dengan alat SYSMEX-XT2000i	persen	Rasio
3.	Eosinofil	Persentase eosinofil yang diperoleh dari hasil pengukuran dengan menggunakan alat SYSMEX-XT2000i	Pengukuran dengan alat SYSMEX-XT2000i	persen	Rasio

No.	Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Alat ukur	Skala
4.	<i>Band</i>	Persentase neutrofil <i>band</i> yang diperoleh dari hasil pengukuran dengan menggunakan alat SYSMEX-XT2000i	Pengukuran dengan alat SYSMEX-XT2000i	persen	Rasio
5.	Segmen	Persentase neutrofil segmen yang diperoleh dari hasil pengukuran dengan menggunakan alat SYSMEX-XT2000i	Pengukuran dengan alat SYSMEX-XT2000i	persen	Rasio
6.	Monosit	Persentase monosit yang diperoleh dari hasil pengukuran dengan menggunakan alat SYSMEX-XT2000i	Pengukuran dengan alat SYSMEX-XT2000i	persen	Rasio
7.	Limfosit	Persentase limfosit yang diperoleh dari hasil pengukuran dengan menggunakan alat SYSMEX-XT2000i	Pengukuran dengan alat SYSMEX-XT2000i	persen	Rasio

4.5 Bahan dan Hewan Coba Penelitian

4.5.1 Bahan penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah deksametason, ekstrak propolis, pelet, air mineral kemasan, ketamin HCl (20-40 mg/KgBB) untuk anestesi hewan coba.

4.5.2 Hewan coba

Jenis hewan coba adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang didapat dari unit penelitian Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran - Unair Surabaya, jenis kelamin jantan, umur 2-3 bulan, mendapat asupan pelet dan memiliki berat badan ± 200 gram yang akan diukur kemudian dengan alat timbang (*torsion balance*) yang memiliki ketelitian 1 angka dibelakang koma. Tikus putih yang digunakan harus memenuhi syarat sehat fisik yang ditandai dengan ciri-ciri bermata jernih, kulit dan rambut putih mengkilap, gerakan lincah dan fesesnya baik atau tidak lembek serta tidak mengalami penurunan berat badan $\geq 10\%$ selama masa aklimatisasi. Tikus tidak akan digunakan bila syarat sehat fisik tidak terpenuhi dan digantikan dengan tikus putih yang lain.

Pemilihan hewan coba jenis ini dikarenakan beberapa alasan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar memiliki kedekatan dengan manusia dalam hal imun seluler, mudah berkembang biak dan mudah mendapat perlakuan, umur 3 bulan pada tikus putih ini merupakan umur yang sudah matur sehingga keadaan anatomi dan faal organ sudah berfungsi optimal, memungkinkan pengambilan sampel berupa darah sebanyak ± 3 ml (dari ventrikel, intra-kardia) guna pemeriksaan total leukosit dan profil sel darah putih dengan alat Sysmex-XT2000i

di Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda). Penelitian ini menggunakan tikus putih berjenis kelamin jantan oleh karena tidak memiliki siklus estrus untuk menghindari efek hormonal yang mungkin dapat mempengaruhi hasil penelitian.

4.6 Instrumen penelitian

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang hewan coba dengan ukuran 30 x 40 x 40 cm, sonde oral, spuit, timbangan torbal (*torsion balance*), gunting, pincet, pisau, kapas, tabung (dengan *EDTA*), Sysmex-XT2000i.

4.7 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Setelah pengambilan sampel, maka sampel akan dibawa ke tempat analisis sampel darah yang akan dilakukan di Laboratorium Balai Besar Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda) Surabaya. Waktu untuk penelitian direncanakan untuk dilakukan dalam bulan Februari – Agustus 2014.

4.8 Prosedur Penelitian

1) Persiapan.

- (1) Kandang tikus disiapkan, kemudian sebanyak 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) diadaptasikan dengan lingkungan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga selama tujuh hari dan diberi diet standar berupa pelet serta minum air mineral kemasan.
- (2) Subyek penelitian dibagi menjadi lima kelompok dengan randomisasi.

Masing-masing kelompok terdiri dari lima (5) ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan.

- (3) Aklimatisasi hewan coba selama tujuh hari dilakukan di lingkungan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Tikus putih yang tidak memenuhi syarat sehat atau yang mengalami penurunan berat badan lebih dari 10 % akan dikeluarkan dari penelitian.
- (4) Penimbangan berat badan dilakukan sebanyak dua kali pada penelitian ini. Penimbangan berat badan dilakukan pada semua kelompok tikus pada pagi hari awal minggu pertama penelitian untuk randomisasi sampel dan sebagai dasar penentuan pemberian dosis deksametason dan ekstrak propolis. Penimbangan kedua dilakukan pada pagi hari diakhir hari ke empat belas penelitian sebagai data pembandingan perkembangan berat badan dari data penimbangan yang pertama.
- (5) Pembuatan suspensi ekstrak propolis dilakukan dengan cara mencampur sebutir kapsul propoelix yang mengandung 100 mg ekstrak propolis dengan air dan CMC-Na. Cara perhitungan dosis:
- (6) Dosis ekstrak propolis pada manusia sebesar 100mg/kali diberikan 2 kali/hari. $100 \text{ mg/kali pemberian} \times \text{faktor konversi } (0,018) = 1,8 \text{ mg/ kali/ } 200 \text{ gram tikus}$. Kemudian membuat 25 mL sediaan, dengan cara melarutkan 100 mg ekstrak propolis kedalam 10 ml air mineral kemasan yang telah ditambahkan 2% CMC-Na (*Sodium Carboxymethyl Cellulose*), kemudian ditambahkan air mineral kemasan hingga 25 mL, aduk hingga rata. Sehingga didapatkan 1,8 mg dalam setiap 0,45 mL.

- (7) Pembuatan suspensi ekstrak propolis-dd dilakukan dengan cara mencampur dua butir kapsul propoelix yang mengandung 100 mg ekstrak propolis dengan air dan CMC-Na. Cara perhitungan dosis:
- (8) Dosis ekstrak propolis pada manusia sebesar 100mg/kali diberikan 2 kali/hari. $100 \text{ mg/kali pemberian} \times \text{faktor konversi } (0,018) \times 2 = 3,6 \text{ mg/ kali pemberian} / 200 \text{ gram tikus}$. Kemudian membuat 25 mL sediaan, dengan cara melarutkan 200 mg ekstrak propolis kedalam 10 ml air mineral kemasan yang telah ditambahkan 2% CMC-Na (*Sodium Carboxymethyl Cellulose*), kemudian ditambahkan air mineral kemasan hingga 25 mL, aduk hingga rata. Sehingga didapatkan 3,6 mg dalam setiap 0,45 mL.
- (9) Pembuatan suspensi deksametason dilakukan dengan cara mencampur sebutir deksametason dengan air dan CMC-Na.
- (10) Dosis deksametason pada manusia sebesar 500 μg /kali diberikan 2 kali/hari. $500 \mu\text{g} / \text{kali pemberian} \times \text{faktor konversi } (0,018) = 9,0 \mu\text{g/ kali}/200 \text{ gram tikus}$. Kemudian membuat 25 mL sediaan, dengan cara melarutkan 500 μg serbuk deksametason ke dalam 10 ml air mineral kemasan yang telah ditambahkan 2% CMC-Na (*Sodium Carboxymethyl Cellulose*), kemudian ditambahkan air mineral kemasan hingga 25 mL, aduk hingga rata. Sehingga didapatkan 9,0 μg dalam setiap 0,45 mL.

2) Pemberian perlakuan

(1) Kelompok 1.

Hari pertama sampai hari ke-14 diberikan diet standar. Diberikan placebo air mineral kemasan sebanyak 0,45 mL pada hari pertama sampai hari

ketujuh, dilanjutkan dengan placebo air mineral kemasan sebanyak 0,45 mL pada hari ketujuh sampai ke-14, dengan frekuensi dua kali sehari pada pukul 07.00 WIB dan 16.00 WIB dengan sonde lambung, selanjutnya makan dan minum per oral (*ad libitum*) setiap hari selama penelitian.

(2) Kelompok 2.

Hari pertama sampai hari ke-14 diberikan diet standar. Diberikan placebo (air mineral kemasan) sebanyak 0,45 mL pada hari pertama sampai hari ketujuh, dilanjutkan dengan placebo (air mineral kemasan) sebanyak 0,45 mL dan dexametason sebanyak 0,45 mL pada hari ketujuh sampai ke-14, dengan frekuensi dua kali sehari pada pukul 07.00 WIB dan 16.00 WIB dengan sonde lambung, selanjutnya makan dan minum per oral (*ad libitum*) selama penelitian.

(3) Kelompok 3.

Hari pertama sampai hari ke-14 diberikan diet standar. Diberikan placebo (air mineral kemasan) sebanyak 0,45 mL pada hari pertama sampai hari ketujuh, dilanjutkan dengan placebo (air mineral kemasan) sebanyak 0,45 mL dan ekstrak propolis sebanyak 0,45 mL pada hari ketujuh sampai ke-14, dengan frekuensi dua kali sehari pada pukul 07.00 WIB dan 16.00 WIB dengan sonde lambung, selanjutnya makan dan minum per oral (*ad libitum*) setiap hari selama penelitian.

(4) Kelompok 4.

Hari pertama sampai hari ke-14 diberikan diet standar. Diberikan deksametason sebanyak 0,45 mL pada hari pertama sampai hari ketujuh,

dilanjutkan dengan placebo (air mineral kemasan) sebanyak 0,45 mL dan ekstrak propolis sebanyak 0,45 mL pada hari ketujuh sampai ke-14, dengan frekuensi dua kali sehari pada pukul 07.00 WIB dan 16.00 WIB dengan sonde lambung, selanjutnya makan dan minum per oral (*ad libitum*) setiap hari selama penelitian.

(5) Kelompok 5.

Hari pertama sampai hari ke-14 diberikan diet standar. Diberikan deksametason sebanyak 0,45 mL pada hari pertama sampai hari ketujuh, dilanjutkan dengan ekstrak propolis-dd sebanyak 0,45 mL pada hari ketujuh sampai ke-14, dengan frekuensi dua kali sehari pada pukul 07.00 WIB dan 16.00 WIB dengan sonde lambung, selanjutnya makan dan minum per oral (*ad libitum*) setiap hari selama penelitian.

3) Sesudah perlakuan.

- (1) Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar sesudah perlakuan akan dilakukan anestesi guna pengambilan sampel darah dari ventrikel jantung. Anestesi dilakukan dengan menggunakan ketamin HCl (20-40 mg/ Kg BB) secara intramuskular. Setelah mata meredup dan badan tidak bergerak, selanjutnya dilakukan insisi dengan pisau bedah pada kulit perut kemudian diambil sampel berupa darah \pm 2-3 ml dari ventrikel jantung. Setelah proses pengambilan sampel, akan dilakukan tindakan aortektomi atau tindakan dekapitasi dan dilanjutkan dengan menguburkan tikus tersebut.
- (2) Sampel darah diberi label sesuai urutan sampel dalam kelompok dan segera dibawa ke Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya. Sampel

darah akan dianalisis dengan menggunakan alat Sysmex-XT2000i untuk menentukan total leukosit dan profil leukosit.

4.9 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan program SPSS yang dijalankan dengan sistem operasi *opensource-linux* yang meliputi analisis statistik sebagai berikut:

1) Uji Statistik Deskriptif

Mengetahui karakteristik data hasil pengukuran variabel berat badan sebelum perlakuan dan setelah perlakuan.

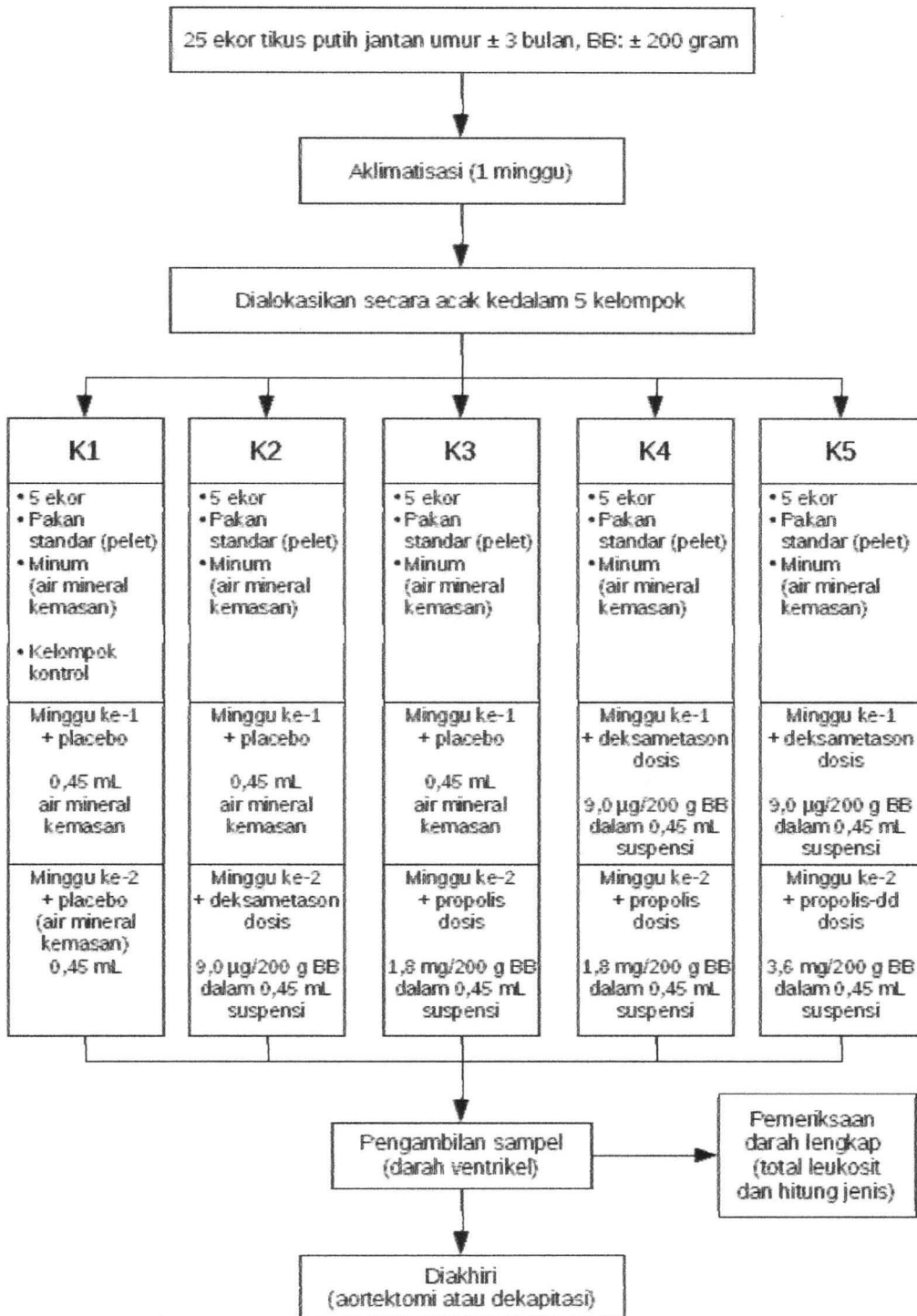
2) Uji Normalitas Distribusi dengan *Kolmogorov-Smirnov* satu sampel,

Mengetahui apakah distribusi data yang diperoleh memiliki distribusi data normal, yang meliputi berat badan, total leukosit, basofil, eosinofil, neutrophil *band*, neutrophil segmen, monosit dan limfosit.

3) Uji *ANOVA* dan uji *Kruskal-Wallis*

Uji *ANOVA* dilakukan apabila telah memenuhi syarat yaitu data berdistribusi normal dan variasi antar kelompok homogen, sedangkan uji *Kruskal-Wallis* dilakukan bila data berdistribusi tidak normal dan atau variasi antar kelompok tidak homogen.

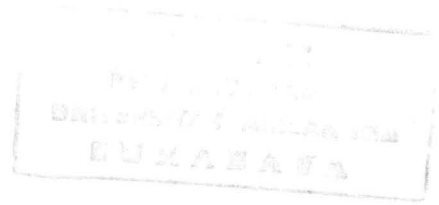
4.10 Diagram Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur penelitian

4.11 Risiko dan Sertifikat Laik Etik Penelitian

Proposal penelitian ini telah dipresentasikan, diuji dan telah mendapatkan sertifikat 'Keterangan Kelaikan Etik' atau '*Ethical Clearance*' oleh Komite Etik Penelitian atau *Animal Care and Use Committee (ACUC)* di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga pada bulan April 2014. Penelitian ini memiliki risiko yang minimal yaitu kematian pada hewan coba akibat perlakuan. Risiko terhadap hewan coba pada penelitian ini dikurangi dengan melakukan hal-hal sebagai berikut: (1) Penyusunan metode penelitian yang baik, (2) Melakukan skrining pada hewan coba sehingga sampel yang terpilih adalah hewan coba yang dalam keadaan sehat fisik, (3) Memperhatikan kualitas pakan dan minum untuk hewan coba dan (4) Tinjauan etik penelitian yang baik.



BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Analisis Deskriptif

Uji statistik deskriptif digunakan untuk mengetahui karakteristik data hasil pengukuran variabel sebelum perlakuan yaitu berat badan (setelah aklimatisasi) dan untuk mengetahui karakteristik data hasil pengukuran variabel setelah perlakuan yang meliputi leukosit total dan profil hitung jenis sel darah putih yang terdiri dari eosinofil, basofil, *band*, segmen, limfosit dan monosit dalam bentuk rerata dan standar deviasi. Sebaran data berdasarkan rerata dan standar deviasi leukosit total dan profil hitung jenis sel darah putih yang terdiri dari eosinofil, basofil, *band*, segmen, limfosit dan monosit dapat dilihat pada tabel 5.1 pada halaman berikut.

Hasil penelitian rerata total leukosit tertinggi pada kelompok yang hanya mendapat ekstrak propolis tanpa pemberian deksametason sebelumnya (K3) sedangkan rerata total leukosit terendah terdapat pada kelompok yang diberi ekstrak propolis setelah diberi deksametason sebelumnya (K4). Hasil pemeriksaan tidak menunjukkan keberadaan basofil, sehingga variabel basofil tidak akan dianalisis lebih lanjut.

Tabel 5.1 Hasil rerata pemeriksaan total leukosit dan hitung jenis

Variabel		Kelompok				
		K1 (n=5) Rerata ± SD	K2 (n=5) Rerata ± SD	K3 (n=5) Rerata ± SD	K4 (n=5) Rerata ± SD	K5 (n=5) Rerata ± SD
Total leukosit	(10 ³ /mm ³)	17,02 ± 2,09	15,38 ± 2,19	18,60 ± 4,55	15,08 ± 3,16	17,10 ± 1,85
Eosinofil	(%)	2.8 ± 0.84	0.4 ± 0.55	0.6 ± 0.89	0.4 ± 0.55	5.2 ± 0.84
Basofil	(%)	0	0	0	0	0
<i>Band</i>	(%)	0.4 ± 0.55	0.6 ± 0.89	1.6 ± 2.07	1.6 ± 0.89	1.4 ± 1.67
Segmen	(%)	16 ± 8.86	26.6 ± 24.11	17.4 ± 4.83	20.6 ± 3.05	24.2 ± 4.02
Limfosit	(%)	78.4 ± 10.01	68.6 ± 22.63	75 ± 8.69	66.6 ± 3.97	62.8 ± 4.27
Monosit	(%)	2.4 ± 1.67	3.8 ± 1.79	5.4 ± 3.51	10.8 ± 3.7	6.4 ± 2.51

Keterangan:

- K1 : Kelompok kontrol, hanya diberi diet standar.
K2 : Kelompok perlakuan diberi deksametason.
K3 : Kelompok perlakuan diberi ekstrak propolis.
K4 : Kelompok perlakuan diberi deksametason dan ekstrak propolis.
K5 : Kelompok perlakuan diberi deksametason dan ekstrak propolis dengan dosis dua kali lipat.
SD : Standar deviasi
n : Besar sampel tiap kelompok

5.2 Uji Normalitas

Uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov* satu sampel dilakukan pada variabel berat badan, total leukosit, eosinofil, *band*, segmen, limfosit dan monosit pada semua kelompok. Uji normalitas pada variabel basofil tidak dilakukan oleh karena tidak ditemukan sel basofil pada hasil pemeriksaan hitung jenis darah sampel. Hasil uji normalitas selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.2 berikut:

Tabel 5.2 Hasil uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov* test

Variabel	Signifikansi	Keterangan
Berat tikus (aklimatisasi)	0,404	distribusi normal
Total leukosit	0,677	distribusi normal
Eosinofil	0,154	distribusi normal
<i>Band</i>	0,113	distribusi normal
Segmen	0,172	distribusi normal
Limfosit	0,699	distribusi normal
Monosit	0,583	distribusi normal

distribusi normal bila $p > 0,05$

Nilai signifikansi (probabilitas= p) hasil uji normalitas variabel berat badan, total leukosit, eosinofil, basofil, *band*, segmen, limfosit dan monosit pada semua kelompok berat badan $p = 0,404$, total leukosit $p = 0,677$, eosinofil $p = 0,154$, *band* $p = 0,113$, segmen $p = 0,172$, limfosit $p = 0,699$, monosit $p = 0,583$. Hasil uji menunjukkan semua data pada variabel diperoleh $p > 0,05$ sehingga data tersebut berdistribusi normal.

5.3 Uji Homogenitas Variasi Antar Kelompok

Uji *Levene Test* pada semua kelompok dilakukan untuk mengetahui homogenitas variasi antar kelompok. Hasil uji *Levene Test* selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.3 berikut.

Tabel 5.3 Hasil uji homogenitas variasi

Variabel	Signifikansi	Keterangan
Berat tikus (aklimatisasi)	0,494	homogen
Total leukosit	0,178	homogen
Eosinofil	0,721	homogen
<i>Band</i>	0,147	homogen
Segmen	0,024	tidak homogen
Limfosit	0,042	tidak homogen
Monosit	0,653	homogen

homogen bila $p > 0,05$

Signifikansi data total leukosit adalah $p = 0,178$, eosinofil $p = 0,721$, *band* $p = 0,147$, segmen $p = 0,024$, limfosit $p = 0,042$, dan monosit $p = 0,653$. Data pada variabel yang diperoleh tersebut menunjukkan $p > 0,05$, sehingga variasi antar kelompok homogen kecuali segmen dan limfosit $p < 0,05$ yang menunjukkan variasi antar kelompok tidak homogen. Data total leukosit, eosinofil, *band* dan monosit selanjutnya akan dianalisis dengan uji parametrik, sedangkan segmen dan limfosit akan dianalisis dengan uji non-parametrik.

5.4 Uji ANOVA

Analisis analitik dilakukan dengan uji *ANOVA* satu sampel untuk melihat perbedaan rata-rata dari seluruh kelompok terhadap total leukosit, eosinofil, *band*

dan monosit atas pemberian ekstrak propolis setelah diberi deksametason. Uji *ANOVA* dilakukan pada variabel total leukosit, eosinofil, *band* dan monosit karena berdistribusi normal dan memiliki variasi antar kelompok yang homogen. Hasil uji *ANOVA* selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.5 berikut:

Tabel 5.4 Hasil uji *ANOVA*

Variabel	Signifikansi	keterangan
Total leukosit	0,549	tidak signifikan
Eosinofil	0,000	signifikan
<i>Band</i>	0,471	tidak signifikan
Monosit	0,001	signifikan

Signifikan bila $p < 0,05$

Signifikansi data eosinofil $p = 0,000$ dan monosit $p = 0,001$ menunjukkan hasil yang bermakna pada uji *ANOVA* dimana nilai $p < 0,05$. Signifikansi data total leukosit $p = 0,0549$ dan *band* $p = 0,471$ menunjukkan perbedaan hasil yang tidak bermakna ($p > 0,05$) pada uji *ANOVA*.

5.5 Hasil Uji *Post Hoc* dengan *Tukey-HSD*

Analisis analitik setelah uji *ANOVA* akan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* menggunakan *Tukey-HSD* untuk menentukan kelompok perlakuan mana saja yang memberikan hasil nilai rata-rata perlakuan yang paling berbeda. Hasil uji *Tukey-HSD* selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.5 pada halaman berikut:

Hasil uji *Post-Hoc* menggunakan *Tukey-HSD* menunjukkan bahwa nilai rerata variabel eosinofil berbeda bermakna jika dibandingkan antara kelompok (K1) dengan kelompok (K2, K3, K4 dan K5), antara kelompok (K2) dengan kelompok (K5), antara kelompok (K3) dengan kelompok (K5), antara kelompok

(K4) dengan kelompok (K5) dengan $p < 0,05$. Terdapat perbedaan yang bermakna rerata variabel monosit pada kelompok (K1, K2, K3) dengan kelompok (K4).

Tabel 5.5 Hasil uji *Tukey-HSD* variabel total leukosit, eosinofil, *band*, monosit.

Variabel	Kelompok	Kelompok	Signifikansi
Eosinofil	K1	K2	0.001
		K3	0.001
		K4	0.001
		K5	0.001
	K2	K1	0.001
		K5	0
	K3	K1	0.001
		K5	0
	K4	K1	0.001
		K5	0
K5	K1	0.001	
	K2	0	
	K3	0	
	K4	0	
Monosit	K1	K4	0.001
		K2	0.006
	K3	K4	0.041
		K1	0.001
	K4	K2	0.006
K3		0.041	

bermakna bila $p < 0,05$

5.6 Uji *Kruskal-Wallis*

Uji non parametrik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dilakukan pada variabel segmen dan limfosit yang memiliki variasi antar kelompok yang tidak homogen. Hasil uji *Kruskal-Wallis* selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.6. Hasil uji *Kruskal-Wallis* pada variabel segmen dan limfosit dengan signifikansi data segmen $p = 0,400$ dan limfosit $p = 0,093$ menunjukkan hasil perbedaan yang

tidak bermakna pada uji *Kruskal-Wallis* dengan $p > 0,05$. Hasil ini mengisyaratkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna diantara kedua kelompok perlakuan pada variabel segmen dan limfosit.

Tabel 5.6 Hasil uji *Kruskal-Wallis* variabel segmen dan limfosit

Variabel	Signifikansi	keterangan
Segmen	0,400	tidak signifikan
Limfosit	0,093	tidak signifikan

bermakna bila $p < 0,05$

BAB 6

PEMBAHASAN



Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak propolis terhadap total leukosit dan profil sel darah putih pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan yang diberi deksametason. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang memenuhi kriteria sebagai penelitian eksperimental murni (*true experiment*) karena memiliki kriteria adanya kelompok kontrol, kelompok perlakuan dan randomisasi sampel (Zainuddin, 2000).

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *randomized post test only control group design* karena penelitian dilakukan dengan membagi hewan coba menjadi 5 kelompok secara acak yang terdiri dari kelompok kontrol negatif yang hanya diberi diet standar, kelompok kontrol positif yang diberi diet standar dan deksametason dengan dosis 500 µg/ kali pemberian/ 200g BB tikus selama tujuh hari, kelompok perlakuan yang diberi diet standar dan ekstrak propolis dengan dosis 1,8 mg/ kali pemberian/ 200g BB tikus selama tujuh hari, kelompok perlakuan yang diberi diet standar dan deksametason dengan dosis 500 µg/ kali pemberian/ 200g BB tikus selama tujuh hari (satu minggu pertama) dilanjutkan dengan ekstrak propolis dengan dosis 1,8 mg/ kali pemberian/ 200g BB tikus selama tujuh hari kedua, kelompok perlakuan yang diberi diet standar dan deksametason dengan dosis 500 µg/ kali pemberian/ 200g BB tikus selama tujuh hari (satu minggu pertama) dilanjutkan dengan ekstrak propolis dengan dosis 3,6 mg/ kali pemberian/ 200g BB tikus selama tujuh hari kedua. Pengambilan darah

tikus dilakukan setelah perlakuan dimana dalam pengambilan darah tersebut tikus dikorbankan karena volume sampel darah yang harus diambil minimum 3-5 mL per ekor dalam waktu singkat sehingga harus diambil secara intra-kardia.

Perlakuan pada penelitian ini yaitu pemberian deksametason, hal ini mengacu pada penelitian sebelumnya (Maududi, 2005) dimana pemberian deksametason per oral dua kali per hari selama tujuh hari dan 14 hari dengan dosis 0,0052 mg/ 20 gram berat badan mencit per hari menurunkan jumlah pusat germinal kelenjar getah bening sebagai salah satu organ yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh seluler pada *Mus musculus*. Perlakuan pada penelitian ini yaitu pemberian ekstrak propolis, hal ini mengacu pada penelitian sebelumnya (Jaya *et al.*, 2008) dimana ekstrak propolis diberikan selama 40 hari dengan beberapa dosis berbeda (9 mg per hari, 12 mg perhari dan 15 mg per hari) yang menunjukkan adanya peningkatan jumlah leukosit yang mempengaruhi respon sistem imun seluler pada *Rattus norvegicus* galur wistar jantan.

Pemberian ekstrak propolis pada penelitian ini dilakukan selama tujuh hari dengan dosis 1,8 mg/ hari/ 200 gram berat badan tikus putih yang merupakan hasil konversi dosis manusia terhadap tikus sesuai dengan tabel konversi perhitungan dosis untuk beberapa jenis hewan dan manusia (Kusumawati, 2004). Pemberian ekstrak propolis pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek imunogenik terhadap profil sel darah putih pada darah tikus putih *Rattus norvegicus* galur wistar jantan.

6.1 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas

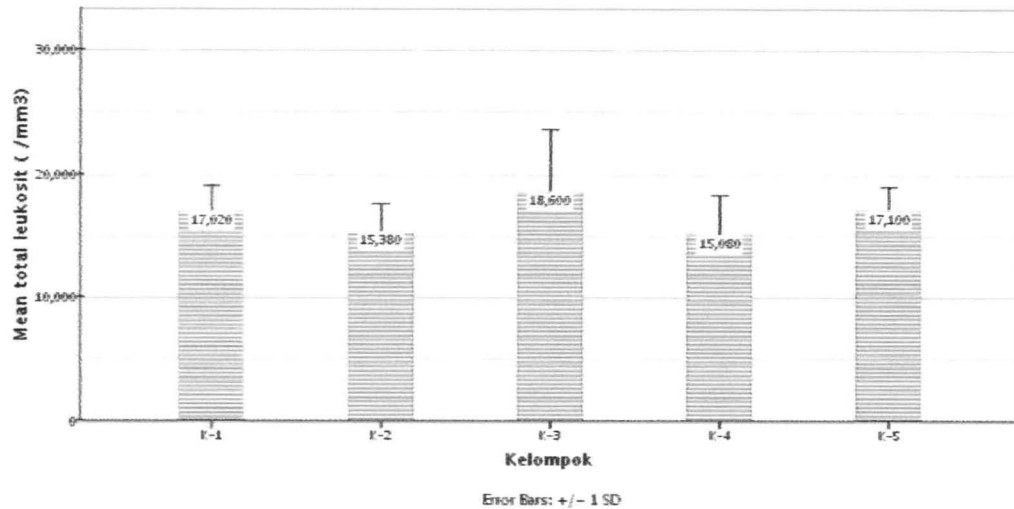
Uji normalitas bertujuan untuk mengetahui apakah data yang didapat berdistribusi normal, yakni distribusi data dengan bentuk lonceng (*bell shaped*) (Santoso, 2012). Uji normalitas ini merupakan salah satu prasyarat dalam menentukan apakah data tersebut selanjutnya akan diuji dengan uji parametrik atau non parametrik, bila distribusi data adalah normal maka kebermaknaan data tersebut dapat diuji dengan uji parametrik.

Uji normalitas pada penelitian ini menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* satu sampel yang dilakukan pada semua kelompok (K1, K2, K3, K4, K5) yaitu variabel moderator berat badan (setelah aklimatisasi) dan variabel dependen yang meliputi total leukosit, eosinofil, basofil, *band*, segmen, limfosit dan monosit. Hasil uji menunjukkan bahwa variabel berat badan, total leukosit, eosinofil, basofil, *band*, segmen, limfosit dan monosit berdistribusi normal dengan $p > 0,05$.

Uji homogenitas data dengan menggunakan *Levene Test* pada variabel kelompok perlakuan menunjukkan bahwa pada variabel total leukosit, eosinofil, basofil, *band* dan monosit diperoleh $p > 0,05$ sehingga variasi antar kelompok homogen dan memenuhi prasyarat untuk dilakukan uji *ANOVA*, dan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilakukan uji *Tukey-HSD*. Data segmen dan limfosit yang menunjukkan variasi antar kelompok yang tidak homogen akan dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilakukan uji *Mann-Whitney U* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan yang bermakna.

6.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis Terhadap Profil Sel Darah Putih

6.2.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis Terhadap Total Leukosit



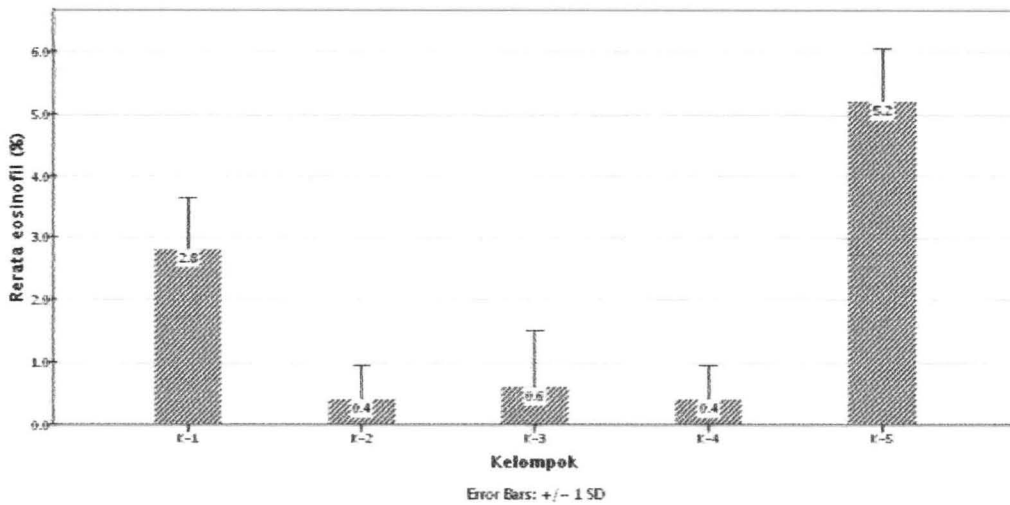
Gambar 6.1 Grafik rerata total leukosit pada masing-masing kelompok

Pemberian deksametason merupakan senyawa glukokortikoid sintetis yang bertujuan menekan sistem imun seluler melalui proses apoptosis pada jenis sel eosinofil, basofil, limfosit, monosit dan menghambat proses marginasi neutrofil ke dinding pembuluh darah sehingga menghambat proses migrasi ke jaringan. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan hasil yang tidak bermakna pada variabel total leukosit diantara kelompok yang mendapatkan ekstrak propolis (K3, K4 dan K5) dengan kelompok kontrol (K1) maupun kelompok yang mendapatkan hanya deksametason (K2) sebagaimana tampak pada gambar grafik 6.1.

Hasil pada penelitian ini berbeda dengan penelitian Jaya *et al.* (2008) yang menunjukkan hasil peningkatan jumlah leukosit. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh perbedaan lama pemberian ekstrak propolis dimana pada penelitian ini diberikan selama tujuh hari dengan masa pemberian pada penelitian Jaya *et al.*

(2008) selama 40 hari, maupun jenis dan dosis ekstrak propolis yang diberikan.

6.2.2 Pengaruh pada eosinofil



Gambar 6.2 Grafik rerata eosinofil pada masing-masing kelompok

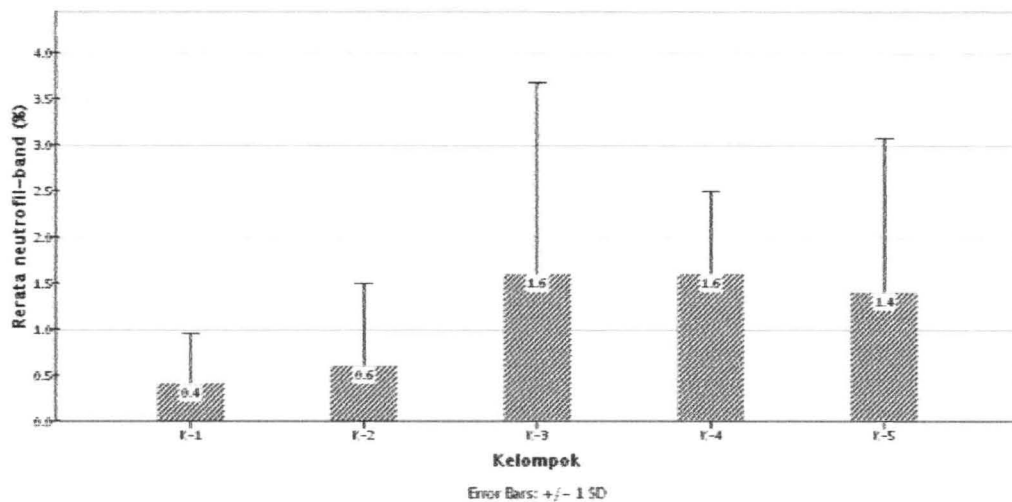
Hasil penelitian menunjukkan perbedaan hasil yang bermakna pada variabel eosinofil diantara kelompok yang diberi deksametason (K2) dengan kelompok kontrol (K1). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian deksametason mempengaruhi hitung jenis eosinofil sesuai dengan literatur maupun hasil penelitian Uing I *et al.*, (2005), dimana pemberian deksametason akan memicu proses apoptosis pada eosinofil. Hasil penelitian pada kelompok yang diberi ekstrak propolis (K4) menunjukkan hasil yang tidak berbeda dengan kelompok yang diberi deksametason (K2). Namun pada kelompok yang diberi ekstrak propolis dosis dua kali lipat, terjadi peningkatan rerata persentase eosinofil baik terhadap kelompok yang diberi deksametason (K2) maupun kelompok kontrol (K1). Dengan hasil total leukosit yang mengalami peningkatan terhadap kelompok kontrol, hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak propolis dapat merangsang

pembentukan eosinofil di sumsum tulang.

6.2.3 Pengaruh pada basofil

Hasil penelitian menunjukkan tidak ditemukan adanya basofil pada semua kelompok penelitian, sehingga variabel basofil tidak turut disertakan pada saat analisis statistik. Hasil ini dapat terjadi oleh karena basofil merupakan sel darah putih yang akan dibentuk bilamana timbul reaksi alergi (terdapat granula yang mengandung histamin) maupun heparin yang membantu membersihkan lemak yang menempel di permukaan endotel pembuluh darah (Sherwood, 2010), sedangkan hewan coba yang digunakan dalam kondisi sehat. Tanpa adanya faktor pemicu maka basofil tidak dibentuk dan diproduksi oleh sumsum tulang.

6.2.4 Pengaruh pada *band*

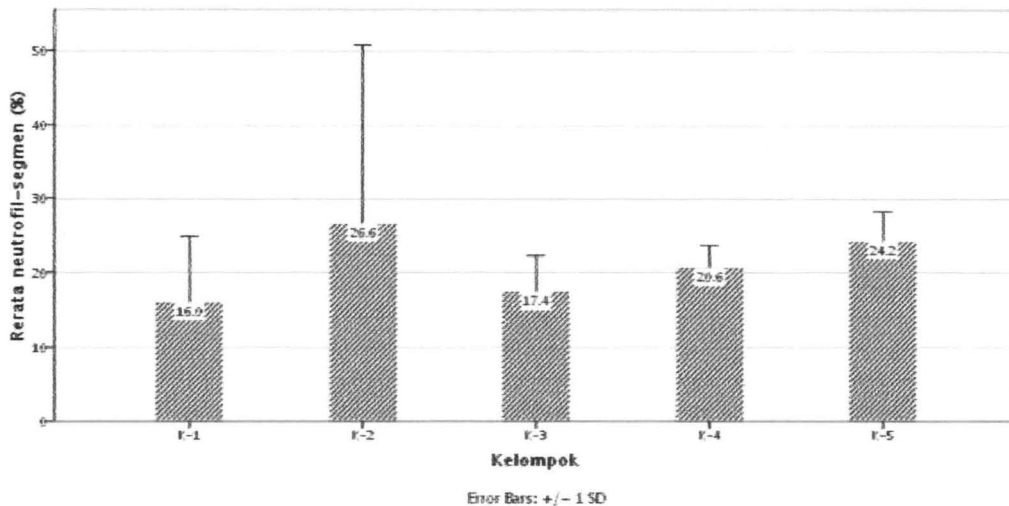


Gambar 6.3 Grafik rerata *band* pada masing-masing kelompok

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan hasil berupa peningkatan yang tidak bermakna pada variabel *band* diantara kelompok (K4, K5) yang diberi ekstrak propolis setelah diberi deksametason dengan kelompok kontrol (K1) maupun kelompok yang hanya diberi deksametason (K2) sebagaimana tampak

pada gambar 6.3. Hasil penelitian ini sesuai dengan yang disampaikan oleh Busti *et al.*, (2009).

6.2.5 Pengaruh pada segmen



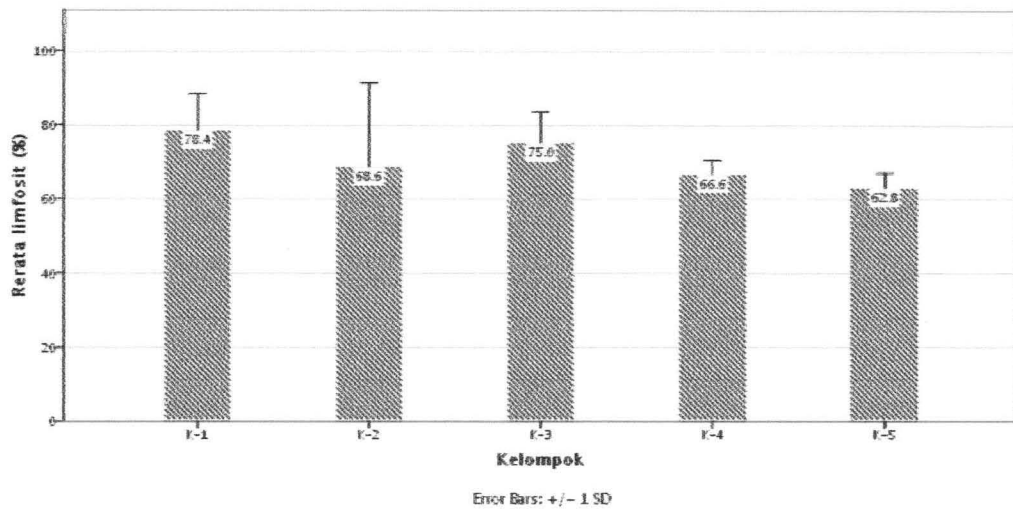
Gambar 6.4 Grafik rerata segmen pada masing-masing kelompok

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan hasil berupa peningkatan rerata segmen netrofil yang tidak bermakna diantara kelompok yang mendapatkan ekstrak propolis (K3, K4 dan K5) dengan kelompok kontrol (K1) dan terdapat penurunan yang tidak bermakna terhadap kelompok yang diberi deksametason (K2) sebagaimana tampak pada gambar grafik 6.4 di atas. Hasil penelitian berupa peningkatan band dan segmen pada kelompok (K2) ini sesuai dengan yang disampaikan oleh Busti *et al.*, (2009), Mishler JM dan Emerson PM (1977).

6.2.6 Pengaruh pada limfosit

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan hasil berupa penurunan yang tidak bermakna pada variabel limfosit diantara kelompok yang mendapatkan ekstrak propolis (K3, K4 dan K5) dengan kelompok kontrol (K1) dan kelompok yang diberi deksametason (K2) sebagaimana tampak pada gambar grafik 6.5

berikut. Penurunan ini dapat disebabkan oleh terjadinya proses apoptosis maupun autofagi pada limfosit yang terpapar oleh deksametason Molitoris *et al.* (2011) dan penurunan jumlah germinal pada kelenjar limfe pada studi yang dilakukan oleh Maududi (2005).

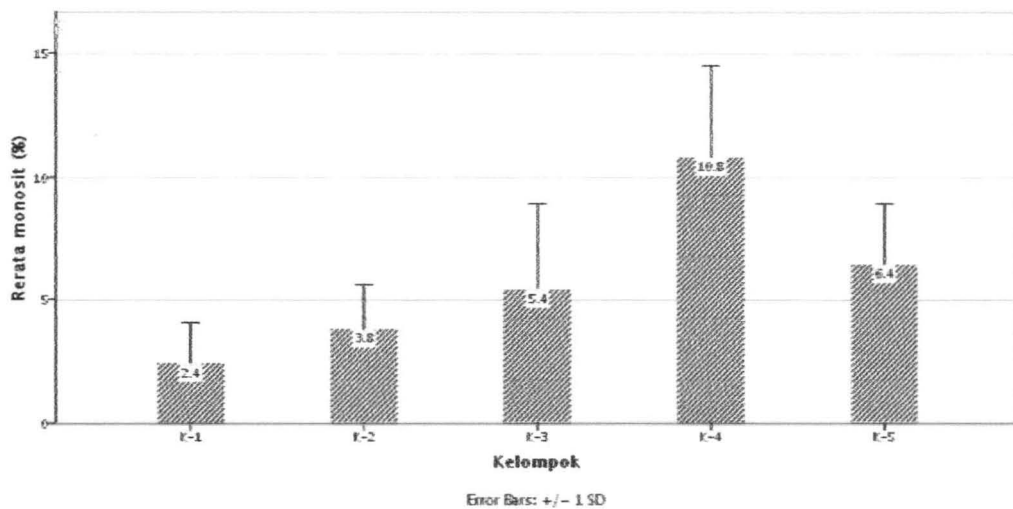


Gambar 6.5 Grafik rerata limfosit pada masing-masing kelompok

6.2.7 Pengaruh pada monosit

Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan yang tidak bermakna pada variabel monosit antara kelompok yang diberi deksametason (K2) dengan kelompok kontrol K1). Hasil ini tidak sesuai dengan yang diharapkan, dimana monosit seharusnya mengalami apoptosis saat terjadi paparan deksametason (Busti *et al.*, 2009). Penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan hasil berupa peningkatan yang bermakna pada kelompok (K4) yang diberi ekstrak propolis setelah diberi deksametason dan peningkatan yang tidak bermakna pada kelompok (K5) yang diberi ekstrak propolis dengan dosis dua kali lipat setelah diberi deksametason (K5) dengan kelompok kontrol (K1), sebagaimana tampak pada gambar 6.6 grafik rerata monosit pada masing-masing kelompok. Kondisi ini

masih belum dapat dijelaskan berdasarkan literatur yang tersedia. Terdapat kemungkinan hewan coba yang kami gunakan pada penelitian ini tidak cukup representatif terhadap kondisi manusia. Namun kami menduga beberapa hal sebagai berikut: peningkatan monosit pada kelompok (K2) yang diberi deksametason disebabkan adanya proses migrasi dari jaringan ke sirkulasi, sedangkan peningkatan pada kelompok (K4) yang mendapat ekstrak propolis terjadi oleh karena peningkatan proses leukopoiesis di sumsum tulang. Peningkatan pada kelompok (K5) tidaklah setinggi kelompok (K4) disebabkan oleh terjadinya proses migrasi dari sirkulasi ke jaringan.



Gambar 6.6 Grafik rerata monosit pada masing-masing kelompok

6.2.8 Keseluruhan hasil penelitian

Keseluruhan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa antara kelompok yang diberi ekstrak propolis (K4) terhadap kelompok kontrol (K1) masih terdapat perbedaan yang bermakna pada variabel eosinofil yang masih rendah, dan tidak terdapat perbedaan yang bermakna bila dibandingkan dengan kelompok (K2) yang diberi deksametason. Pada kelompok yang diberi ekstrak propolis dosis

ganda (K5) didapatkan perbedaan hasil berupa peningkatan yang bermakna pada variabel eosinofil dan monosit, peningkatan pada total leukosit, neutrofil *band* dan segmen, penurunan yang tidak bermakna pada variabel limfosit, sebagaimana tampak pada tabel 6.1 berikut:

Tabel 6.1 Perbandingan profil sel darah putih antar kelompok (K1, K2, K4, K5)

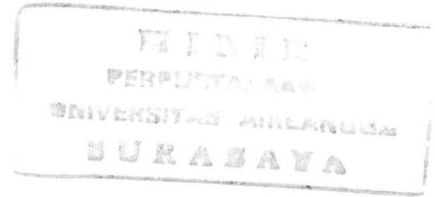
	K2		K4		K5	
	K1		K1	K2	K1	K2
Total leukosit	↓ (-)		↓ (-)	↓ (-)	↑ (-)	↑ (-)
Basofil	↔		↔	↔	↔	↔
Eosinofil	↓ (+)		↓ (+)	↔ (-)	↑ (+)	↑ (+)
<i>Band</i>	↑ (-)		↑ (-)	↑ (-)	↑ (-)	↑ (-)
Segmen	↑ (-)		↑ (-)	↓ (-)	↑ (-)	↓ (-)
Limfosit	↓ (-)		↓ (-)	↓ (-)	↓ (-)	↓ (-)
Monosit	↑ (-)		↑ (+)	↑ (-)	↑ (+)	↑ (-)

Keterangan :

Perubahan : ↑: meningkat, ↓: menurun dan ↔: tidak ada perubahan

Kemaknaan : (+): bermakna secara statistik, (-) tidak bermakna secara statistik

BAB 7
PENUTUP



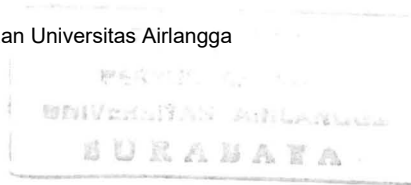
7.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak propolis, dengan dosis pemberian 1,8 mg/200gram BB tikus putih/ kali pemberian - dua kali perhari, akan meningkatkan secara bermakna rerata monosit, peningkatan tidak bermakna pada rerata *band* dan segmen, penurunan bermakna rerata eosinofil, penurunan tidak bermakna rerata total leukosit dan limfosit, tidak ada perubahan pada rerata basofil bila dibandingkan dengan kelompok kontrol (K1).
2. Pemberian ekstrak propolis, dengan dosis pemberian 3,6 mg/200gram BB tikus putih/ kali pemberian - dua kali perhari, akan meningkatkan secara bermakna pada rerata eosinofil dan monosit, meningkatkan tidak bermakna pada rerata total leukosit, neutrofil (*band* dan segmen), dan terdapat penurunan tidak bermakna pada rerata limfosit dan tidak ada perubahan pada rerata basofil, dibandingkan kelompok kontrol (K1).

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak propolis mampu mengembalikan profil sel darah putih terutama eosinofil dan monosit pada darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi ekstrak propolis dan kemampuan ini bergantung pada dosis pemberian.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai zat aktif yang terdapat pada ekstrak propolis serta mekanisme kerja terhadap proses leukopoiesis.
2. Perlu pemberian CMC-Na pada placebo kelompok kontrol dan yang lain.



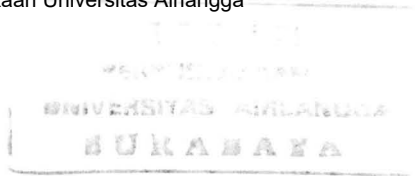
DAFTAR PUSTAKA

- Bankova V, Castro SL, Marcucci MC, 1999. 'Propolis: recent advance in chemistry and plant origin', *Apidologie* 31 (2000), pp. 3-15
- Boudreau LH, Maillet J, LeBlanc LM, Jean-François J, Touaibia M, Flamand N, Surette ME, 2012. 'Caffeic acid phenethyl ester and Its amide analogue are potent inhibitors of leukotriene biosynthesis in human polymorphonuclear leukocytes', *PLoS ONE* 7(2): e31833. doi:10.1371/journal.pone.0031833
- Brunton L, Parker K, Blumenthal D, Buxton I, 2008, *e-Book of goodman and gilman's manual of pharmacology and therapeutics*, McGraw Hill Medical, New York, p. 1028
- Busti AJ, Rutherford WS, Nuzum DS, Dave BJ, McKeever GC, 2009, 'What is the mechanism by which glucocorticoids (e.g., dexamethasone, methylprednisolone, prednisone) increase the white blood cell (WBC) count?', **diakses (Maret 2014) dari www.pharmacologyweekly.com**
- Chuu CP, Lin HP, Ciaccio MF, Kokontis JM, Hause RJ Jr, Hiipakka RA, Liao S, Jones RB, 2012. 'Caffeic acid phenethyl ester suppresses the proliferation of human prostate cancer cells through inhibition of p70S6K and Akt signaling networks', *Cancer Prev Res (Phila)*. 2012 May;5(5):788-97. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-12-0004-T.
- Egert S, Rimbach G, 2011. 'Which sources of flavonoids: complex diets or dietary supplements?', *Adv Nutr* vol. 2: 8-14, 2011
- Federer W, 1991. 'Statistics and society: data collection and interpretation 2nd edition', *Marcel Dekker, New York*
- Fischer G, Conceição FR, Leite FP, Dummer LA, Vargas GD, Hübner Sde O, Dellagostin OA, Paulino N, Paulino AS, Vidor T, 2007. 'Immunomodulation produced by a green propolis extract on humoral and cellular responses of mice immunized with SUHV-1', *Vaccine*. 2007 Jan 26;25(7):1250-6. Epub 2006 Oct 18
- Fokt H, Pereira A, Ferreira AM, Cunha, Aguiar C, 2010, 'How do bees prevent hive infection? The antimicrobial properties of propolis', **diakses (Maret 2014) dari www.formatex.info**
- Fox SI, 2011, *e-Book of human physiology 12th edition*, New York: McGraw-Hill, pp. 371-2
- Garber JC, 2010. Guide for the care and use of laboratory animals, *The national academies press, Washington DC*

- Guyton AC and Hall JE, 2006, *e-Book of textbook of medical physiology 11th edition*, Elsevier Inc., Philadelphia, pp. 430-37
- Idward Y, 2011, 'Penggunaan pengobatan alternatif', diakses (Maret 2014) dari www.info-kes.com
- Janvier R, 2013, 'Research model: rats', diakses (Maret 2014) dari www.janvier-labs.com
- Jaya F., Radiati LE., Awwaly KU., Kalsum U 2008. 'Pengaruh pemberian ekstrak propolis terhadap sistem kekebalan seluler pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar', *Jurnal teknologi pertanian vol. 9 no.1 Pp. 1-9*
- Kusumawati D, 2004, '*Bersahabat dengan hewan coba*', Gajah Mada University Press, Yogyakarta, p. 73
- Lotfy M, 2006. 'Biological activity of bee propolis in health and disease', *Asian Pac J Cancer Prev, 7, Pp. 22-31*
- Maududi MA, 2005. '*Efek pemberian deksametason terhadap jumlah dan diameter pusat germinal kelenjar getah bening pada mencit (Mus musculus) jantan*', Surabaya: Universitas Airlangga
- Mazzucconi MG, Fazi P, Bernasconi S, Rossi GD, Leone G, Gugliota L, Vianelli N, Avvisati G, Rodeghiro F, Amendola A, Baronci C, Carbone C, Quattrin S, Fioritoni G, D'Alfonso G, Mandelli F, 2014, 'Therapy with high-dose dexamethasone (HD-DXM) in previously untreated patients affected by idiopathic thrombocytopenic purpura: a GIMEMA experience', diakses (Februari 2014) dari <http://bloodjournal.hematologylibrary.org>
- Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM, 2011, *e-Book of williams textbook of endocrinology 12th edition*, Saunders-Elsevier, Philadelphia, pp. 481-99
- Mishler JM and Emerson PM, 1977. 'Development of neutrophilia by serially increasing doses of dexamethasone', *Br J Haematol. 1977 Jun; 36(2):249-57*
- Molitoris JK, McColl KS, Swerdlow S, Matsuyama M, Lam M, Finkel TH, Matsuyama S, Distelhorst CW, 2011. 'Glucocorticoid elevation of dexamethasone-induced gene 2 (Dig/RTP801/REDD1) protein mediates autophagy in lymphocytes', *J Biol Chem. 2011 Aug 26; 286(34):30181-9*
- Ofusori DA, Martins C, 2008. 'A comparative histomorphometric study of the stomach of rats (*Rattus norvegicus*), bat (*Eidolon helvum*), and pangaolin (*Manis tricuspis*) in relation to diet', *Int. J. Morphol. 26 (3): 669-74.*
- Orban Z, Mitsiades N, Burke TR Jr, Tsokos M, Chrousos GP, 2000. 'Caffeic acid

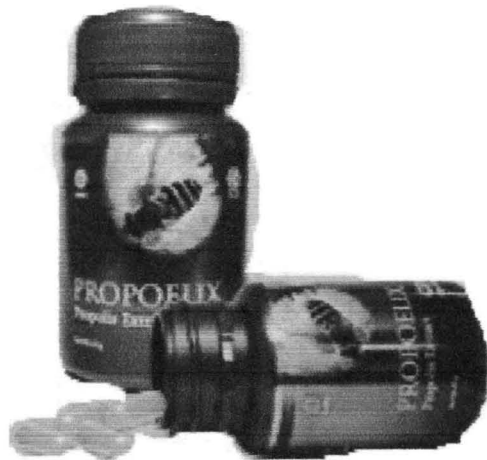
- phenethyl ester induces leukocyte apoptosis, modulates nuclear factor-kappa B and suppresses acute inflammation', *Neuroimmunomodulation*. 2000;7(2):99-105.
- Ottonello L, Bertolotto M, Montecucco F, Dapino P, Dallegri F, 2005. 'Dexamethasone-induced apoptosis of human monocytes exposed to immune complexes. Intervention of CD95- and XIAP-dependent pathways', *Int J Immunopathol Pharmacol*, 18(3):403-15.
- Salomão K, de Souza EM, Henriques-Pons A, Barbosa HS, de Castro SL, 2011. 'Brazilian Green Propolis: Effects In Vitro and In Vivo on Trypanosoma cruzi', *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2011 (2011), Article ID 185918*
- Santoso S. 2012. 'Aplikasi SPSS pada statistik multivarian', *Jakarta: Elex Media Komputindo*
- Schaik IN, Efimov F, Doorn PA, Brusse E, Berg LH, Pol WL, Faber CG, Oostrom JCH, Vagels OJM, Hadden RDM, Kleine BU, Norden AGW, Verschuur JGM, Dijkgraaf MGW, Vermeulen M, 2010. 'Pulsed high-dose dexamethasone versus standard prednisolone treatment for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (PREDICT study) a double-blind, randomised, controlled trial', *Lancet neurol* 2010;9:245-53
- Sforcin JM, 2007. 'Propolis and the immune system: a review', *J Ethnopharmacol*. 2007 Aug 15;113(1):1-14. Epub 2007 May 22.
- Sherwood L, 2010, *e-Book of human physiology from cells to systems 7th edition*, Belmont Brooks/Cole Cengage Learning, Belmont, pp. 400-1
- Silverthorn DU, Johnson BR, Ober WC, Garrison CW, Silverthorn AC, 2010, *e-Book of human physiology an integrated approach 5th edition*, Pearson Inc., San Fransisco, pp. 548-9
- Smith B, John B, Mangkoewidjojo S, 1988. 'Pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis', Jakarta: Universitas Indonesia
- Son S, Lobkowsky EB, Lewis BA, 2001. 'Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): synthesis and X-ray crystallographic analysis', *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2001 Feb;49(2):236-8.
- Sugiharto, Harlina, Effendi C, 2012. 'Perubahan jumlah Leukosit, Neutrofil dan Limfosit sesudah latihan fisik maksimal dengan pemberian Glutathion', *Surabaya: Universitas Airlangga*
- Sugiyanto, 1995. 'Petunjuk praktikum farmasi edisi IV', Yogyakarta: Laboratorium Farmasi dan Taksonomi UGM

- Sugiyono, 2007. 'Metode penelitian kuantitatif dan kualitatif', Bandung: Alfabeta
- Tate P, 2012, *e-Book of Seeley's principle of anatomy and physiology 2nd edition*, McGraw-Hill, New York, pp. 471-4
- Torres, D, Hollands, I, Palacios, E 1990. Effect of an alcoholic extract of propolis on the in vitro growth of *Giardia lamblia*,
- Trusheva B, Popova M, Bankova V, Simova S, Marcucci MC, Miorin PL, Pasin FR, Tsvetkova I, 2006. 'Bioactive constituents of Brazilian red propolis', *Evid Based Complement Alternat Med. Jun 2006; 3(2): 249-254*.
- Trusheva B, Popova M, Koendhori EB, Tsvetkova I, Naydenski C, Bankova V, 2011. 'Indonesian propolis: chemical composition, biological activity and botanical origin', *Nat Prod Res. 2011 Mar;25(6):606-13. doi: 10.1080/14786419.2010.488235*.
- U.S. Department of Health and Human Services, 2005, '*e-Book of guidance for industry estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers*', Rockville: FDA, Center for Drug Evaluation and Research (CDER),
- Uings I, Puxeddu I, Temkin V, Smith SJ, Fattah D, Ray KP, Schaffer FL, April 2005. 'Effect of dexamethasone on TNF-alpha-induced release of cytokines from purified human blood eosinophils', *Clinical and Molecular Allergy; doi: 10.1186/1476-7961-3-5*
- Wagh VD, 2013, 'Propolis: A Wonder Bees Product and Its Pharmacological Potentials', diakses (Maret 2014) dari www.dx.doi.org
- Wang LC, Chu KH, Liang YC, Lin YL, Chiang BL, 2010. 'Caffeic acid phenethyl ester inhibits nuclear factor- κ B and protein kinase B signalling pathways and induces caspase-3 expression in primary human CD4+ T cells', *Clin Exp Immunol. May 2010; 160(2): 223-232*
- Widodo J, Pudjirahardjo, Poernomo H, Machfoed MH, 1993, '*Metode penelitian dan statistik terapan*', Surabaya: Airlangga University Press, pp: 49-58,
- Yalfani R, Khosravi A, Pirouz B, 2013, 'Evaluation of the antifungal activity of Iranian propolis against *Candida albicans*', diakses (Maret 2014) dari <http://hal.archives-ouvertes.fr>
- Zainuddin M, 2000. 'Metodologi penelitian', Surabaya: Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga



Lampiran 1 Propoelix produksi HD-Indonesia

Pada penelitian ini menggunakan salah satu produk pengobatan alternatif dari HD-Indonesia, yaitu “Propoelix”, yang dikatakan produk propolis lebah ini memiliki kandungan bioflavonoid dan poliphenol yang tinggi. Penelitian analisis kimia yang lain menunjukkan bahwa propolis lebah mengandung 55% sejenis resin/balsem, 30% wax / lilin lebah, 10% minyak aromatik dan 5% bee pollen. Propolis produk CC. Pollen Company, yang berada di kota Bogor, menggunakan bahan dasar propolis dari Brazil dimana kandungan wax sudah dipisahkan (tidak mengandung wax/ lilin). Kandungan aktif di dalam resin adalah bioflavonoids, pinocembrin, chrysin, galangin, quercetin. Dikatakan bahwa kandungan bioflavonoids dan poliphenol yang tinggi akan semakin efektif propolisnya. Pada brosur Propoelix produksi HD-Indonesia dikatakan bahwa propolis merupakan penyembuh alami yang berharga karena tidak ada efek samping, tidak memiliki kontra indikasi dan tidak menimbulkan resistensi (kuman menjadi kebal) seperti produk antibiotik kimia pada umumnya (Wagh, 2013).



Gambar lampiran 1.
Propoelix, produk HD-Indonesia

Setiap kapsul produk “Propoelix” mengandung 100 mg ekstrak propolis dengan komposisi menyerupai produk pangan lokal yaitu bothok sarang lebah yang dikukus sehingga lilin akan mencair dan tidak ikut tersajikan.

Lampiran 2

Susunan Diet Standar

Pakan untuk diet standar yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan merek pakan komplit butiran ayam adu remaja dalam bentuk pellet (Widodo *et al.*, 1993). Pakan ini merupakan campuran bahan-bahan sebagai berikut: jagung, dedak, tepung ikan, bungkil, kedelai, bungkil kelapa, tepung daging dan tulang, pecahan gandum, bungkil kacang tanah, *canola*, tepung daun, vitamin, kalsium, fosfat, dan *trace mineral*. Bahan-bahan tersebut diolah hingga mengandung komposisi sebagai berikut: kadar air max 13,0%, protein 13,0-15,0%, lemak min 3,0%, serat max 8,0%, abu max 6,0%, kalsium min 0,8%, fosfor min 0,6%. Kebutuhan pakan standar satu ekor adalah 12-20 gram/ hari.

Lampiran 3
Waktu Penelitian

No.	Jenis Kegiatan	Bulan						
		Jan 2014	Feb 2014	Mar 2014	April 2014	Mei 2014	Juni 2014	Juli 2014
1.	Persiapan							
	Konsultasi dan koreksi Proposal	■	■	■				
	Persiapan ujian proposal	■	■	■				
	Ujian proposal				■			
	Ujian kelaikan etik				■			
2.	Pelaksanaan							
	Persiapan penelitian				■			
	Pelaksanaan Penelitian					■	■	
3.	Pelaporan							
	Pembahasan						■	■
	Persiapan ujian tesis						■	■
	Ujian tesis							■
	Perbaikan dan penyerahan hasil tesis							■

Lampiran 4

Hasil Uji Menggunakan SPSS

1. Statistik deskriptif

	Descriptive Statistics				
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Berat tikus putih (aklimatisasi)	25	222.48	3.949	216	229
Total Leukosit	25	16636.00	3553.505	12200	30000
Eosinofil	25	1.88	2.048	0	6
Basofil	25	.00	.000	0	0
Neutrofil - Band	25	1.12	1.333	0	5
Neutrofil - Segment	25	20.96	11.606	8	68
Limfosit	25	70.28	12.401	30	87
Monosit	25	5.76	3.865	1	17

2. Uji homogenitas

	Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
Berat tikus putih (aklimatisasi)	.879	4	20	.494	
Total Leukosit	1.752	4	20	.178	
Eosinofil	.522	4	20	.721	
Basofil	.	4	.	.	
Band	1.914	4	20	.147	
Segmen	3.570	4	20	.024	
Limfosit	3.035	4	20	.042	
Monosit	.621	4	20	.653	

3. Uji distribusi normal

		One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test							
		Berat tikus (aklimatisasi)	Total Leukosit	Eos	Baso	Band	Segment	Limfosit	Monosit
N		25	25	25	25	25	25	25	25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	222.48	16636.00	1.88	.00	1.12	20.96	70.28	5.76
	Std. Dev	3.949	3553.505	2.048	.000 ^c	1.333	11.606	12.401	3.865
Most Extreme Differences	Absolute	.178	.144	.226	.	.240	.221	.142	.155
	Positive	.095	.144	.226	.	.240	.221	.109	.155
	Negative	-.178	-.135	-.179	.	-.200	-.132	-.142	-.109
Kolmogorov-Smirnov Z		.892	.720	1.132	.	1.198	1.107	.708	.776
Asymp. Sig. (2-tailed)		.404	.677	.154	.	.113	.172	.699	.583

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. The distribution has no variance for this variable. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test cannot be performed.

4. Uji parametrik (ANOVA)

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Total Leukosit	Between Groups	4.109E7	4	1.027E7	.784	.549
	Within Groups	2.620E8	20	1.310E7		
	Total	3.031E8	24			
Eosinofil	Between Groups	89.440	4	22.360	39.929	.000
	Within Groups	11.200	20	.560		
	Total	100.640	24			
Basofil	Between Groups	.000	4	.000		
	Within Groups	.000	20	.000		
	Total	.000	24			
Band	Between Groups	6.640	4	1.660	.922	.471
	Within Groups	36.000	20	1.800		
	Total	42.640	24			
Segmen	Between Groups	398.560	4	99.640	.703	.599
	Within Groups	2834.400	20	141.720		
	Total	3232.960	24			
Limfosit	Between Groups	802.640	4	200.660	1.389	.273
	Within Groups	2888.400	20	144.420		
	Total	3691.040	24			
Monosit	Between Groups	205.360	4	51.340	6.702	.001
	Within Groups	153.200	20	7.660		
	Total	358.560	24			

5. Uji Kruskal-Wallis

Ranks				Test Statistics ^{a,b}		
	Kelompok	N	Mean Rank		Segmen	Limfosit
Segmen	K-1	5	9.70	Chi-Square	4.047	7.974
	K-2	5	12.70	df	4	4
	K-3	5	10.90	Asymp. Sig.	.400	.093
	K-4	5	13.40	a. Kruskal Wallis Test		
	K-5	5	18.30	b. Grouping Variable: Kelompok		
	Total	25				
Limfosit	K-1	5	18.40			
	K-2	5	14.40			
	K-3	5	15.30			
	K-4	5	10.50			
	K-5	5	6.40			
	Total	25				

6. Uji deskriptif

		N	Mean	Std	Std.	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
				Deviation	Error	Lower Bound	Upper Bound		
Total Leukosit	K-1	5	17020.00	2089.737	934.559	14425.25	19614.75	14600	19700
	K-2	5	15380.00	2189.064	978.979	12661.92	18098.08	12700	18700
	K-3	5	18600.00	6549.427	2928.993	10467.81	26732.19	14300	30000
	K-4	5	15080.00	3163.384	1414.708	11152.14	19007.86	12200	20400
	K-5	5	17100.00	1852.026	828.251	14800.41	19399.59	15000	20000
	Total	25	16636.00	3553.505	710.701	15169.19	18102.81	12200	30000
Eosinofil	K-1	5	2.80	.837	.374	1.76	3.84	2	4
	K-2	5	.40	.548	.245	-.28	1.08	0	1
	K-3	5	.60	.894	.400	-.51	1.71	0	2
	K-4	5	.40	.548	.245	-.28	1.08	0	1
	K-5	5	5.20	.837	.374	4.16	6.24	4	6
	Total	25	1.88	2.048	.410	1.03	2.73	0	6
Basofil	K-1	5	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
	K-2	5	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
	K-3	5	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
	K-4	5	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
	K-5	5	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
	Total	25	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
Band	K-1	5	.40	.548	.245	-.28	1.08	0	1
	K-2	5	.60	.894	.400	-.51	1.71	0	2
	K-3	5	1.60	2.074	.927	-.97	4.17	0	5
	K-4	5	1.60	.894	.400	.49	2.71	0	2
	K-5	5	1.40	1.673	.748	-.68	3.48	0	4
	Total	25	1.12	1.333	.267	.57	1.67	0	5
Segment	K-1	5	16.00	8.860	3.962	5.00	27.00	8	27
	K-2	5	26.60	24.110	10.782	-3.34	56.54	10	68
	K-3	5	17.40	4.827	2.159	11.41	23.39	13	24
	K-4	5	20.60	3.050	1.364	16.81	24.39	19	26
	K-5	5	24.20	4.025	1.800	19.20	29.20	20	30
	Total	25	20.96	11.606	2.321	16.17	25.75	8	68
Limfosit	K-1	5	78.40	10.015	4.479	65.96	90.84	67	87
	K-2	5	68.60	22.634	10.122	40.50	96.70	30	85
	K-3	5	75.00	8.689	3.886	64.21	85.79	60	81
	K-4	5	66.60	3.975	1.778	61.66	71.54	61	70
	K-5	5	62.80	4.266	1.908	57.50	68.10	59	69
	Total	25	70.28	12.401	2.480	65.16	75.40	30	87

		N	Mean	Std Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Monosit	K-1	5	2.40	1.673	.748	.32	4.48	1	5
	K-2	5	3.80	1.789	.800	1.58	6.02	2	6
	K-3	5	5.40	3.507	1.568	1.05	9.75	2	11
	K-4	5	10.80	3.701	1.655	6.20	15.40	8	17
	K-5	5	6.40	2.510	1.122	3.28	9.52	3	10
	Total	25	5.76	3.865	.773	4.16	7.36	1	17
Berat tikus putih (aklimatisasi)	K-1	5	226.40	2.702	1.208	223.05	229.75	222	229
	K-2	5	222.20	3.962	1.772	217.28	227.12	217	226
	K-3	5	220.80	4.438	1.985	215.29	226.31	216	226
	K-4	5	221.80	3.114	1.393	217.93	225.67	218	225
	K-5	5	221.20	3.962	1.772	216.28	226.12	216	227
	Total	25	222.48	3.949	.790	220.85	224.11	216	229

7. Uji independent T-test one sample

		Levene's Test for Equality of Variances		t	df	Sig. (2-tailed)	Mean difference	Std. Error difference	95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.						Lower	Upper	
1-2	Total Leukosit	Equal variances assumed	.026	.876	1.212	8	.260	1640.000	1353.440	-1481.038	4761.038
		Equal variances not assumed			1.212	7.983	.260	1640.000	1353.440	-1482.209	4762.209
	Eosinofil	Equal variances assumed	.640	.447	5.367	8	.001	2.400	.447	1.369	3.431
		Equal variances not assumed			5.367	6.897	.001	2.400	.447	1.339	3.461
	Band	Equal variances assumed	1.756	.222	-4.26	8	.681	-2.00	.469	-1.282	.882
		Equal variances not assumed			-4.26	6.630	.683	-2.00	.469	-1.322	.922
	Segmen	Equal variances assumed	1.746	.223	-9.23	8	.383	-10.600	11.487	-37.090	15.890
		Equal variances not assumed			-9.23	5.061	.398	-10.600	11.487	-40.023	18.823
	Limfosit	Equal variances assumed	1.394	.272	.885	8	.402	9.800	11.069	-15.725	35.325
		Equal variances not assumed			.885	5.508	.413	9.800	11.069	-17.881	37.481
	Monosit	Equal variances assumed	.094	.767	-1.278	8	.237	-1.400	1.095	-3.926	1.126
		Equal variances not assumed			-1.278	7.965	.237	-1.400	1.095	-3.928	1.128
1-3	Total Leukosit	Equal variances assumed	2.363	.163	-5.14	8	.621	-1580.000	3074.476	-8669.753	5509.753
		Equal variances not assumed			-5.14	4.806	.630	-1580.000	3074.476	-9580.064	6420.064
	Eosinofil	Equal variances assumed	.094	.767	4.017	8	.004	2.200	.548	.937	3.463
		Equal variances not assumed			4.017	7.965	.004	2.200	.548	.936	3.464
	Band	Equal variances assumed	3.798	.087	-1.251	8	.246	-1.200	.959	-3.412	1.012
		Equal variances not assumed			-1.251	4.555	.271	-1.200	.959	-3.740	1.340
	Segmen	Equal variances assumed	7.046	.029	-3.10	8	.764	-1.400	4.512	-11.805	9.005
		Equal variances not assumed			-3.10	6.182	.767	-1.400	4.512	-12.363	9.563
	Limfosit	Equal variances assumed	1.035	.339	.573	8	.582	3.400	5.930	-10.274	17.074
		Equal variances not assumed			.573	7.844	.582	3.400	5.930	-10.321	17.121
	Monosit	Equal variances assumed	1.342	.280	-1.726	8	.123	-3.000	1.738	-7.007	1.007
		Equal variances not assumed			-1.726	5.731	.137	-3.000	1.738	-7.301	1.301
1-4	Total Leukosit	Equal variances assumed	.220	.652	1.144	8	.286	1940.000	1695.524	-1969.884	5849.884
		Equal variances not assumed			1.144	6.933	.291	1940.000	1695.524	-2077.184	5957.184
	Eosinofil	Equal variances assumed	.640	.447	5.367	8	.001	2.400	.447	1.369	3.431
		Equal variances not assumed			5.367	6.897	.001	2.400	.447	1.339	3.461
	Band	Equal variances assumed	.427	.532	-2.558	8	.034	-1.200	.469	-2.282	-.118
		Equal variances not assumed			-2.558	6.630	.039	-1.200	.469	-2.322	-.078
	Segmen	Equal variances assumed	15.148	.005	-1.098	8	.304	-4.600	4.190	-14.263	5.063
		Equal variances not assumed			-1.098	4.935	.323	-4.600	4.190	-15.415	6.215
	Limfosit	Equal variances assumed	19.459	.002	2.449	8	.040	11.800	4.819	.688	22.912
		Equal variances not assumed			2.449	5.230	.056	11.800	4.819	-.425	24.025
	Monosit	Equal variances assumed	1.309	.286	-4.624	8	.002	-8.400	1.817	-12.589	-4.211
		Equal variances not assumed			-4.624	5.569	.004	-8.400	1.817	-12.930	-3.870
1-5	Total Leukosit	Equal variances assumed	.258	.625	-0.64	8	.950	-80.000	1248.759	-2959.644	2799.644
		Equal variances not assumed			-0.64	7.886	.951	-80.000	1248.759	-2966.899	2806.899
	Eosinofil	Equal variances assumed	.000	1.000	-4.536	8	.002	-2.400	.529	-3.620	-1.180
		Equal variances not assumed			-4.536	8.000	.002	-2.400	.529	-3.620	-1.180
	Band	Equal variances assumed	4.188	.075	-1.270	8	.240	-1.000	.787	-2.816	.816
		Equal variances not assumed			-1.270	4.847	.262	-1.000	.787	-3.043	1.043
	Segmen	Equal variances assumed	9.497	.015	-1.884	8	.096	-8.200	4.352	-18.236	1.836
		Equal variances not assumed			-1.884	5.584	.112	-8.200	4.352	-19.045	2.645
	Limfosit	Equal variances assumed	15.380	.004	3.204	8	.013	15.600	4.868	4.374	26.826
		Equal variances not assumed			3.204	5.405	.021	15.600	4.868	3.363	27.837
	Monosit	Equal variances assumed	.227	.646	-2.965	8	.018	-4.000	1.349	-7.111	-.889
		Equal variances not assumed			-2.965	6.969	.021	-4.000	1.349	-7.193	-.807
2-3	Total Leukosit	Equal variances assumed	2.439	.157	-1.043	8	.328	-3220.000	3088.268	-10341.559	3901.559
		Equal variances not assumed			-1.043	4.883	.346	-3220.000	3088.268	-11216.353	4776.353
	Eosinofil	Equal variances assumed	1.756	.222	-4.26	8	.681	-2.00	.469	-1.282	.882
		Equal variances not assumed			-4.26	6.630	.683	-2.00	.469	-1.322	.922
	Band	Equal variances assumed	2.046	.190	-9.90	8	.351	-1.000	1.010	-3.329	1.329
		Equal variances not assumed			-9.90	5.439	.364	-1.000	1.010	-3.534	1.534
	Segmen	Equal variances assumed	3.409	.102	.837	8	.427	9.200	10.996	-16.158	34.558
		Equal variances not assumed			.837	4.320	.447	9.200	10.996	-20.459	38.859
	Limfosit	Equal variances assumed	2.314	.167	-5.90	8	.571	-6.400	10.843	-31.403	18.603
		Equal variances not assumed			-5.90	5.154	.580	-6.400	10.843	-34.023	21.223
	Monosit	Equal variances assumed	1.036	.339	-9.09	8	.390	-1.600	1.761	-5.660	2.460
		Equal variances not assumed			-9.09	5.949	.399	-1.600	1.761	-5.917	2.717
2-4	Total Leukosit	Equal variances assumed	.293	.603	.174	8	.866	300.000	1720.407	-3667.265	4267.265
		Equal variances not assumed			.174	7.116	.866	300.000	1720.407	-3754.676	4354.676
	Eosinofil	Equal variances assumed	.000	1.000	.000	8	1.000	.000	.346	-.799	.799
		Equal variances not assumed			.000	8.000	1.000	.000	.346	-.799	.799
	Band	Equal variances assumed	.073	.794	-1.768	8	.115	-1.000	.566	-2.304	.304
		Equal variances not assumed			-1.768	8.000	.115	-1.000	.566	-2.304	.304
	Segmen	Equal variances assumed	4.504	.067	.552	8	.596	6.000	10.868	-19.062	31.062
		Equal variances not assumed			.552	4.128	.609	6.000	10.868	-23.810	35.810
	Limfosit	Equal variances assumed	4.279	.072	.195	8	.851	2.000	10.277	-21.699	25.699
		Equal variances not assumed			.195	4.246	.855	2.000	10.277	-25.892	29.892
	Monosit	Equal variances assumed	1.026	.341	-3.807	8	.005	-7.000	1.838	-11.240	-2.760
		Equal variances not assumed			-3.807	5.772	.010	-7.000	1.838	-11.542	-2.458
2-5	Total Leukosit	Equal variances assumed	.075	.791	-1.341	8	.217	-1720.000	1282.342	-4677.085	1237.085
		Equal variances not assumed			-1.341	7.786	.218	-1720.000	1282.342	-4691.269	1251.269
	Eosinofil	Equal variances assumed	.640	.447	-10.733	8	.000	-4.800	.447	-5.831	-3.769
		Equal variances not assumed			-10.733	6.897	.000	-4.800	.447	-5.861	-3.739
	Band	Equal variances assumed	1.735	.224	-9.943	8	.373	-8.00	.849	-2.757	1.157
		Equal variances not assumed			-9.943	6.113	.382	-8.00	.849	-2.867	1.267
	Segment	Equal variances assumed	3.956	.082	.220	8	.832	2.400	10.932	-22.808	27.608
		Equal variances not assumed			.220	4.223	.836	2.400	10.932	-27.330	32.130
	Limfosit	Equal variances assumed	4.188	.075	.563	8	.589	5.800	10.300	-17.953	29.553
		Equal variances not assumed			.563	4.284	.602	5.800	10.300	-22.067	33.667
	Monosit	Equal variances assumed	.085	.778	-1.886	8	.096	-2.600	1.378	-5.779	-.579
		Equal variances not assumed			-1.886	7.230	.100	-2.600	1.378	-5.838	-.638

		Levene's Test for Equality of Variances		t	df	Sig. (2-tailed)	Mean difference	Std. Error difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.						Lower	Upper
Total Leukosit	Equal variances assumed	1.385	.273	1.082	8	.311	3520.000	3252.753	-3980.861	11020.861
	Equal variances not assumed			1.082	5.770	.322	3520.000	3252.753	-4516.743	11556.743
Eosinofil	Equal variances assumed	1.756	.222	.426	8	.681	.200	.469	-.882	1.282
	Equal variances not assumed			.426	6.630	.683	.200	.469	-.922	1.322
Band	Equal variances assumed	2.278	.170	.000	8	1.000	.000	1.010	-2.329	2.329
	Equal variances not assumed			.000	5.439	1.000	.000	1.010	-2.534	2.534
3-4 Segmen	Equal variances assumed	3.093	.117	-1.253	8	.246	-3.200	2.553	-9.088	2.688
	Equal variances not assumed			-1.253	6.754	.252	-3.200	2.553	-9.283	2.883
Limfosit	Equal variances assumed	1.126	.320	1.966	8	.085	8.400	4.273	-1.454	18.254
	Equal variances not assumed			1.966	5.604	.100	8.400	4.273	-2.238	19.038
Monosit	Equal variances assumed	.003	.957	-2.368	8	.045	-5.400	2.280	-10.658	-.142
	Equal variances not assumed			-2.368	7.977	.045	-5.400	2.280	-10.661	-.139
Total Leukosit	Equal variances assumed	2.891	.127	.493	8	.635	1500.000	3043.846	-5519.122	8519.122
	Equal variances not assumed			.493	4.636	.645	1500.000	3043.846	-6513.104	9513.104
Eosinofil	Equal variances assumed	.094	.767	-8.398	8	.000	-4.600	.548	-5.863	-3.337
	Equal variances not assumed			-8.398	7.965	.000	-4.600	.548	-5.864	-3.336
Band	Equal variances assumed	.133	.725	.168	8	.871	.200	1.192	-2.548	2.948
	Equal variances not assumed			.168	7.658	.871	.200	1.192	-2.569	2.969
3-5 Segmen	Equal variances assumed	.757	.409	-2.419	8	.042	-6.800	2.811	-13.281	-.319
	Equal variances not assumed			-2.419	7.750	.043	-6.800	2.811	-13.318	-.282
Limfosit	Equal variances assumed	1.008	.345	2.818	8	.023	12.200	4.329	2.217	22.183
	Equal variances not assumed			2.818	5.823	.031	12.200	4.329	1.529	22.871
Monosit	Equal variances assumed	.433	.529	-.518	8	.618	-1.000	1.929	-5.448	3.448
	Equal variances not assumed			-.518	7.246	.620	-1.000	1.929	-5.530	3.530
Total Leukosit	Equal variances assumed	.599	.461	-1.232	8	.253	-2020.000	1639.329	-5800.300	1760.300
	Equal variances not assumed			-1.232	6.454	.261	-2020.000	1639.329	-5963.905	1923.905
Eosinofil	Equal variances assumed	.640	.447	-10.733	8	.000	-4.800	.447	-5.831	-3.769
	Equal variances not assumed			-10.733	6.897	.000	-4.800	.447	-5.861	-3.739
Band	Equal variances assumed	1.969	.198	.236	8	.820	.200	.849	-1.757	2.157
	Equal variances not assumed			.236	6.113	.821	.200	.849	-1.867	2.267
4-5 Segmen	Equal variances assumed	.477	.509	-1.594	8	.150	-3.600	2.258	-8.808	1.608
	Equal variances not assumed			-1.594	7.454	.152	-3.600	2.258	-8.875	1.675
Limfosit	Equal variances assumed	.005	.946	1.457	8	.183	3.800	2.608	-2.213	9.813
	Equal variances not assumed			1.457	7.960	.183	3.800	2.608	-2.219	9.819
Monosit	Equal variances assumed	.468	.513	2.200	8	.059	4.400	2.000	-.212	9.012
	Equal variances not assumed			2.200	7.037	.064	4.400	2.000	-.324	9.124

8. Uji Post Hoc dengan Tukey HSD

Dependent Variable	Kelompok (I)	Kelompok (J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Total Leukosit	K-1	K-2	1640.000	2288.947	.950	-5209.39	8489.39
		K-3	-1580.000	2288.947	.956	-8429.39	5269.39
		K-4	1940.000	2288.947	.912	-4909.39	8789.39
		K-5	-80.000	2288.947	1.000	-6929.39	6769.39
	K-2	K-1	-1640.000	2288.947	.950	-8489.39	5209.39
		K-3	-3220.000	2288.947	.631	-10069.39	3629.39
		K-4	300.000	2288.947	1.000	-6549.39	7149.39
		K-5	-1720.000	2288.947	.941	-8569.39	5129.39
	K-3	K-1	1580.000	2288.947	.956	-5269.39	8429.39
		K-2	3220.000	2288.947	.631	-3629.39	10069.39
		K-4	3520.000	2288.947	.551	-3329.39	10369.39
		K-5	1500.000	2288.947	.964	-5349.39	8349.39
	K-4	K-1	-1940.000	2288.947	.912	-8789.39	4909.39
		K-2	-300.000	2288.947	1.000	-7149.39	6549.39
		K-3	-3520.000	2288.947	.551	-10369.39	3329.39
		K-5	-2020.000	2288.947	.900	-8869.39	4829.39
	K-5	K-1	80.000	2288.947	1.000	-6769.39	6929.39
		K-2	1720.000	2288.947	.941	-5129.39	8569.39
		K-3	-1500.000	2288.947	.964	-8349.39	5349.39
		K-4	2020.000	2288.947	.900	-4829.39	8869.39
Eosinofil	K-1	K-2	2.400*	.473	.001	.98	3.82
		K-3	2.200*	.473	.001	.78	3.62
		K-4	2.400*	.473	.001	.98	3.82
		K-5	-2.400*	.473	.001	-3.82	-9.8
	K-2	K-1	-2.400*	.473	.001	-3.82	-9.8
		K-3	-.200	.473	.993	-1.62	1.22
		K-4	.000	.473	1.000	-1.42	1.42
		K-5	-4.800*	.473	.000	-6.22	-3.38
	K-3	K-1	-2.200*	.473	.001	-3.62	-7.8
		K-2	.200	.473	.993	-1.22	1.62
		K-4	.200	.473	.993	-1.22	1.62
		K-5	-4.600*	.473	.000	-6.02	-3.18
	K-4	K-1	-2.400*	.473	.001	-3.82	-9.8
		K-2	.000	.473	1.000	-1.42	1.42
		K-3	-.200	.473	.993	-1.62	1.22
		K-5	-4.800*	.473	.000	-6.22	-3.38
	K-5	K-1	2.400*	.473	.001	.98	3.82
		K-2	4.800*	.473	.000	3.38	6.22
		K-3	4.600*	.473	.000	3.18	6.02
		K-4	4.800*	.473	.000	3.38	6.22

[The main body of the page contains extremely faint, illegible text, likely bleed-through from the reverse side of the paper. The text is too light to transcribe accurately.]

Dependent Variable	Kelompok (I)	Kelompok (J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Band	K-1	K-2	-.200	.849	.999	-2.74	2.34
		K-3	-1.200	.849	.626	-3.74	1.34
		K-4	-1.200	.849	.626	-3.74	1.34
		K-5	-1.000	.849	.763	-3.54	1.54
	K-2	K-1	.200	.849	.999	-2.34	2.74
		K-3	-1.000	.849	.763	-3.54	1.54
		K-4	-1.000	.849	.763	-3.54	1.54
		K-5	-.800	.849	.877	-3.34	1.74
	K-3	K-1	1.200	.849	.626	-1.34	3.74
		K-2	1.000	.849	.763	-1.54	3.54
		K-4	.000	.849	1.000	-2.54	2.54
		K-5	.200	.849	.999	-2.34	2.74
	K-4	K-1	1.200	.849	.626	-1.34	3.74
		K-2	1.000	.849	.763	-1.54	3.54
		K-3	.000	.849	1.000	-2.54	2.54
		K-5	.200	.849	.999	-2.34	2.74
	K-5	K-1	1.000	.849	.763	-1.54	3.54
		K-2	.800	.849	.877	-1.74	3.34
		K-3	-.200	.849	.999	-2.74	2.34
		K-4	-.200	.849	.999	-2.74	2.34
Monosit	K-1	K-2	-1.400	1.750	.928	-6.64	3.84
		K-3	-3.000	1.750	.448	-8.24	2.24
		K-4	-8.400*	1.750	.001	-13.64	-3.16
		K-5	-4.000	1.750	.191	-9.24	1.24
		K-2	K-1	1.400	1.750	.928	-3.84
	K-3		-1.600	1.750	.888	-6.84	3.64
	K-4		-7.000*	1.750	.006	-12.24	-1.76
	K-5		-2.600	1.750	.583	-7.84	2.64
	K-3	K-1	3.000	1.750	.448	-2.24	8.24
		K-2	1.600	1.750	.888	-3.64	6.84
		K-4	-5.400*	1.750	.041	-10.64	-.16
		K-5	-1.000	1.750	.978	-6.24	4.24
	K-4	K-1	8.400*	1.750	.001	3.16	13.64
		K-2	7.000*	1.750	.006	1.76	12.24
		K-3	5.400*	1.750	.041	.16	10.64
		K-5	4.400	1.750	.127	-.84	9.64
	K-5	K-1	4.000	1.750	.191	-1.24	9.24
		K-2	2.600	1.750	.583	-2.64	7.84
		K-3	1.000	1.750	.978	-4.24	6.24
		K-4	-4.400	1.750	.127	-9.64	.84

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

Lampiran 5
Sertifikat Laik Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
Animal Care and Use Committee (ACUC)

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
“ ETHICAL CLEARANCE ”

No : 320-KE

KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :

PENELITIAN BERJUDUL : Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis Terhadap Profil Sel Darah Putih Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Jantan Yang Diberi Deksametason

PENELITI UTAMA : Arief Hendraningrat

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN : Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Surabaya, 17 April 2014

Mengetahui,
Dekan FKH-Unair,

Prof. Romziah Sidik, Ph.D., drh.
NIP. 195312161978062001

Ketua,

Dr. E. Bimo Aksono, M.Kes., Drh.
NIP. 196609201992031003

Lampiran 6
Hasil Pemeriksaan Hematologi



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL BINA UPAYA KESEHATAN
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA

Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya - 60286
Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451 Faksimili : (031) 5020388
Website : bbklsurabaya.com : Surat elektronik : bbklsurabaya@yahoo.co.id

HASIL PEMERIKSAAN HEMATOLOGI

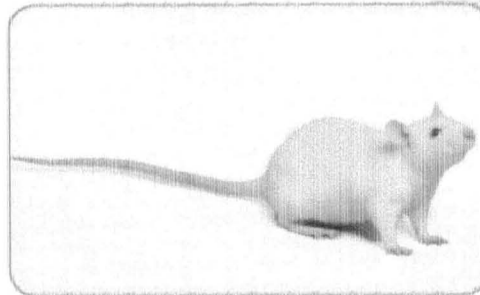
Jenis bahan : Darah Tikus
Jumlah sample : 25 sampel
Diambil oleh : dr.Arief Hendraningrat
Dikirim oleh : FK Unair
Diterima tanggal : 15 Mei 2014
Dikerjakan tanggal : 15 Mei 2014
Pemeriksaan : DL

No	Nama	Hasil Pemeriksaan			
		Hb g/dL	Leukosit /mm ³	Trombosit /mm ³	Diff Count (eos/baso/stab/seg/limpo/mono)%
1.	S2-01	13.9	17.300	874.000	2 / 0 / 1 / 12 / 84 / 1
2.	S2-02	13.3	18.700	848.000	1 / 0 / 2 / 11 / 82 / 4
3.	S2-03	15.0	18.200	1.057.000	2 / 0 / 0 / 9 / 86 / 3
4.	S2-04	13.9	19.700	1.314.000	3 / 0 / 0 / 8 / 87 / 2
5.	S2-05	12.9	30.000	1.002.000	1 / 0 / 0 / 13 / 89 / 6
6.	S2-06	15.4	14.600	843.000	3 / 0 / 1 / 24 / 67 / 5
7.	S2-07	14.5	15.900	1.477.000	0 / 0 / 0 / 27 / 67 / 6
8.	S2-08	15.2	14.900	824.000	1 / 0 / 1 / 17 / 79 / 2
9.	S2-09	16.7	12.700	928.000	0 / 0 / 0 / 68 / 30 / 2
10.	S2-10	14.1	14.700	1.347.000	0 / 0 / 0 / 10 / 85 / 5
11.	S2-11	12.6	15.300	1.448.000	4 / 0 / 0 / 27 / 68 / 1
12.	S2-12	13.1	16.600	929.000	0 / 0 / 1 / 15 / 79 / 5
13.	S2-13	13.2	17.800	1.341.000	2 / 0 / 0 / 14 / 81 / 3
14.	S2-14	14.2	14.300	1.062.000	0 / 0 / 2 / 21 / 75 / 2
15.	S2-15	14.4	14.300	982.000	0 / 0 / 5 / 24 / 60 / 11
16.	S2-16	14.1	15.000	1.566.000	5 / 0 / 1 / 26 / 62 / 6
17.	S2-17	14.2	12.200	1.240.000	0 / 0 / 2 / 20 / 68 / 10
18.	S2-18	13.1	13.400	1.190.000	0 / 0 / 0 / 19 / 64 / 17
19.	S2-19	12.0	17.500	1.121.000	6 / 0 / 4 / 24 / 59 / 7
20.	S2-20	13.9	15.100	1.383.000	1 / 0 / 2 / 19 / 70 / 8
21.	S2-21	14.2	14.300	1.390.000	0 / 0 / 2 / 26 / 61 / 11
22.	S2-22	14.3	16.400	1.144.000	6 / 0 / 2 / 30 / 59 / 3
23.	S2-23	14.3	20.000	1.083.000	5 / 0 / 0 / 20 / 69 / 6
24.	S2-24	14.2	20.400	1.280.000	1 / 0 / 2 / 19 / 70 / 8
25.	S2-25	13.2	16.600	1.042.000	4 / 0 / 0 / 21 / 65 / 10

Keterangan :
- Diff count & kopyahan
Ser manual (mikroskopis)

15 Mei 2014
Manager Mutu
BALAI BESAR
LABORATORIUM KESEHATAN
SURABAYA
dr. Adi Pramono Hendrata Sp.PK
Nip: 196410221990111003





WISTAR Rat

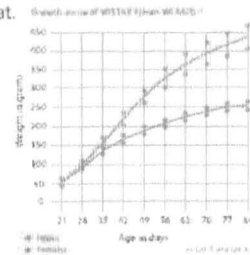
- **Strain name:** RjHan:Wl
- **Type:** Outbred rat
- **Origin:** Zentralinstitut für Versuchstierzucht (Hannover) 1982 (from Allington Farm - UK - 1964)
- **Colour and related genotype:** Albino rat - Tyr^{-/-}/Tyr⁺
- **Breeding:** Good breeder

Description of our model

This strain was selected by DONALDSON in 1906 at the Wistar Institute (USA), from a batch belonging to Chicago University (RUSSEL-LINDSAY, 1979).

The **WISTAR** rat is an outbred stock, used in all fields of medical and biological research. Its longevity and high rate of spontaneous tumours make it an ideal choice for ageing studies.

It is an albino strain, easy-to-handle, it is however slower learner than Long Evans rat.



Main application and research fields

www.janvier-labs.com

Hematological parameters* of 6-12 weeks old WISTAR rats (Wistar/Wist)		
Parameters	Male	Female
Erythrocytes (10 ¹² /l)	8.5 ± 0.4	8.5 ± 0.4
Hematocrit (%)	0.48 ± 0.02	0.46 ± 0.02
Hemoglobin (g/dl)	15.0 ± 0.7	15.7 ± 0.8
Mean corpuscular volume (fl)	56 ± 2	54 ± 2
Mean corpuscular rate (pg)	18.5 ± 0.7	18.4 ± 0.6
Hemoglobin concentration (g/dl)	33 ± 1	34 ± 1
Blood platelets (10 ⁹ /l)	1225 ± 181	1305 ± 175
Leucocytes (10 ⁹ /l)	15.3 ± 1.7	18.7 ± 2.9
Neutrophils (10 ⁹ /l)	2.65 ± 0.90	1.68 ± 0.75
Lymphocytes (10 ⁹ /l)	11.57 ± 3.34	8.46 ± 2.37
Stromaphils (10 ⁹ /l)	0.21 ± 0.10	0.20 ± 0.10
Monocytes (10 ⁹ /l)	0.86 ± 0.18	0.27 ± 0.14
Ranophils (10 ⁹ /l)	0.08 ± 0.09	0.06 ± 0.07

Reproductive data	
Monogamous mating according Robertson System	
Litter size at birth	12
Weaning %	94
Productivity index	2.88
Sterility %	2
Gestation time	Between 20 and 23 days
	-12.8 %
	-12.1 - 12 %
	-12.2 - 11 %
	-12.3 - 1 %

* Janvier Labs, statistics for animals kept in...

Biochemical blood parameters* of 6-12 weeks old WISTAR rat females (Wist)		
Parameters	Male	Female
Glucose (g/l)	6.0 ± 0.9	5.4 ± 0.8
Urea (g/l)	5.2 ± 0.7	5.5 ± 1.0
AST (ASAT) (U/l)	93 ± 20	89 ± 17
ALT (ALAT) (U/l)	32 ± 5	30 ± 8
Alkaline phosphatase (U/l)	135 ± 32	104 ± 12
Cholesterol (g/l)	1.8 ± 0.3	1.8 ± 0.4
Triglycerides (g/l)	0.9 ± 0.3	0.8 ± 0.1
Creatinine (mg/l)	0.11 ± 0.7	0.10 ± 0.6

* Janvier Labs, statistics for animals kept in...

Our added value

- The « JANVIER LABS Genetic Policy », a specific programme, guarantees less than 1% inbreeding per generation.

Lampiran 8
Dokumentasi foto penelitian

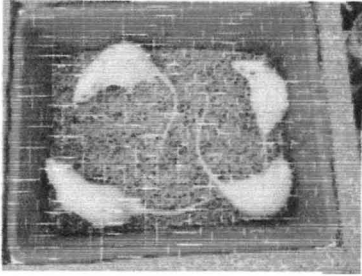


Foto 1. Tikus putih di dalam kandang beralaskan sekam

Foto 2. Pembuatan suspensi ekstrak propolis

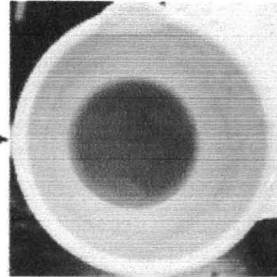


Foto 3. Pemberian diet dan bahan penelitian

Foto 4. Proses pembiusan tikus putih

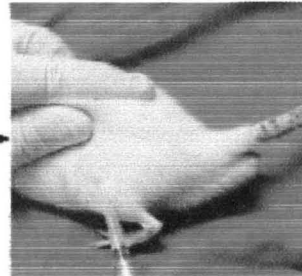


Foto 5. Pengambilan sampel darah intra-kardia

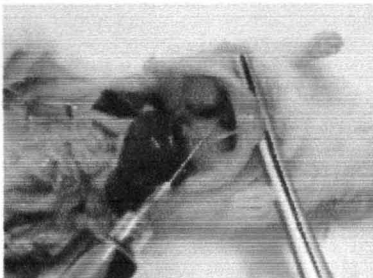


Foto 6. Alat Sysmex-XT2000i di Labkesda

