

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI *Andrographis paniculata* DAN *Echinacea purpurea* SEBAGAI  
IMUNOMODULATOR TERHADAP  
JUMLAH DAN JENIS LEUKOSIT  
MENCIT YANG TERPAPAR  
STRES PANAS**



Oleh :

**PURNANING DHIAN ISNAENI**

**NIM 060610039**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2011**


**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI *Andrographis paniculata* DAN *Echinacea purpurea* SEBAGAI  
IMUNOMODULATOR TERHADAP  
JUMLAH DAN JENIS LEUKOSIT  
MENCIT YANG TERPAPAR  
STRES PANAS**

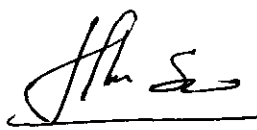
Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan  
pada  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

oleh  
**PURNANING DHIAN ISNAENI**  
NIM 060610039

Menyetujui  
Komisi Pembimbing,

  
**(Prof. Dr. Dewa Ketut Meles, drh, M.S.)**  
Pembimbing Utama

  
**(Sri Mumpuni Sosiawati, drh, M.Kes.)**  
Pembimbing Serta

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul:

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI *Andrographis paniculata* DAN  
*Echinacea purpurea* SEBAGAI IMUNOMODULATOR TERHADAP  
TOTAL DAN JENIS LEUKOSIT MENCIT  
YANG TERPAPAR STRES PANAS**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 21 Pebruari 2011



**Purnaning Dhian Isnaeni**  
**NIM. 060610039**

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal: 26 Januari 2011

**KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN**

Ketua : Retno Bijanti, drh., M.S.  
Sekretaris : Dr. E. Bimo Aksono, drh., M.Kes.  
Anggota : Ratna Damayanti, drh., M.Kes.  
Pembimbing Utama : Prof. Dr. Dewa Ketut Meles, drh., M.S.  
Pembimbing Serta : Sri Mumpuni Sosiawati, drh., M.Kes.

Telah diuji pada

Tanggal: 17 Pebruari 2011

**KOMISI PENGUJI SKRIPSI**

Ketua : Retno Bijanti, drh., M.S.

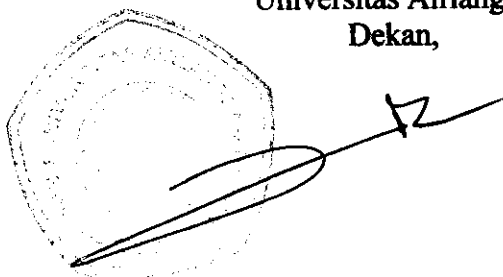
Anggota : Dr. E. Bimo Aksono, drh., M.Kes.

Ratna Damayanti, drh., M.Kes.

Prof. Dr. Dewa Ketut Meles, drh., M.S..

Sri Mumpuni Sosiawati, drh., M.Kes.

Surabaya, 21 Pebruari 2011  
Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga  
Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D.  
NIP. 19531216 197806 2 001

**EFFECT OF COMBINATION *Andrographis paniculata* AND *Echinacea purpurea* AS THE IMMUNOMODULATOR ON TOTAL AND DIFFERENTIAL LEUCOCYTES COUNT IN MURINE WITH HEAT STRESS**

Purnaning Dhian Isnaeni

**ABSTRACT**

One of immune system components that had function to protect the body was white blood cell. Disturbance of immune system could cause the pathogen infect the body. One of the disturbances of immune system was stress, such as heat stress. *Andrographis paniculata* contained active compound andrographolide and *Echinacea purpurea* had polysaccharides compound that possesses immunomodulatory effect. This research used combination of *Andrographis paniculata* and *Echinacea purpurea* as immunomodulator on murine treated with heat stress in 39-40<sup>0</sup>C. This research used 70 mice different treatments: P0 (without immunomodulator), P1 (dosage of immunomodulator given was 0.00364 caps/murine/day), P2 (two times of P1 dosage), and P3 (two times of P2 dosage). The total and differential leucocyte count was done every week for four weeks. The result was analyzed by ANOVA and Tukey test, and resulted significant difference on total leucocyte count on first and third week. Significant differences were also seen on eosinophil count on first week, segmented neutrophil on third week, and limphocyte count on third week.

**Key Word:** *Andrographis paniculata*, *Echinacea purpurea*, immunomodulator, total and differential leucocyte count, heat stress.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **Pengaruh Pemberian Kombinasi *Andrographis paniculata* dan *Echinacea purpurea* sebagai Imunomodulator terhadap Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit yang Terpapar Stres Panas** dengan baik.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada : Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D. atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Husni Anwar, drh. selaku dosen wali yang selalu memberi arahan selama menempuh pendidikan sarjana di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Dewa Ketut Meles, drh, M.S. selaku pembimbing utama serta dosen pembimbing penelitian, dan Sri Mumpuni Sosiawati, drh, M.Kes. selaku pembimbing kedua, yang telah banyak memberikan saran dan bimbingan dalam penulisan hasil penelitian ini.

Retno Bijanti, drh., M.S. selaku ketua penguji, Dr. E. Bimo Aksono, drh., M.Kes. selaku sekretaris penguji, dan Ratna Damayanti, drh., M.Kes. selaku anggota penguji yang telah memberikan masukan.

Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bimbingan dan motivasi selama mengikuti pendidikan sarjana.

Seluruh staf Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, atas bantuan selama proses penelitian.

Kedua orangtua saya Subiyanto dan Sriyana yang tak henti-hentinya memberikan dukungan yang begitu luar biasa dan doa yang tak pernah ada putusanya.

Kakak saya Januar Ainur Hidayat, Shera Primasari, Apriyani Cahyaning, dan adik saya Akhmad Mukhlis yang telah banyak memberi motivasi dalam hidup saya dan mendorong agar saya agar bisa menjadi orang yang lebih baik dan menjadi seseorang yang kuat.

Teman-teman angkatan 2006 Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Teman penelitian saya Muhammad Yusuf. Sahabat dan teman seperjuangan saya yang selalu menemani di saat sedih dan bahagia Dian Ratri Anggarani, Berlian Kusuma D., Andria Sulistyorini, Vina Aviane, Lidyawati Rahadiansyah, Adiana Mutamsari, Ritria Palupi A., Aezzi Dimitra, Indah Amalia A., dan Melani Tressia.

Keluarga besar Kelompok Minat Profesi Veteriner Pet and Wild Animal, keluarga pertama saya di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Semua pihak yang telah banyak membantu baik berupa moril maupun materil dan belum bisa saya sebutkan satu per satu.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat menjadi informasi yang berharga bagi dunia kedokteran hewan.

Surabaya, Januari 2011

Penulis



**DAFTAR ISI**

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN .....	ii
HALAMAN IDENTITAS .....	iii
ABSTRACT .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vi
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG .....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Landasan Teori .....	5
1.4 Tujuan Penelitian .....	6
1.5 Manfaat penelitian .....	7
1.6 Hipotesis .....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	8
2.1 Sistem Kekebalan Tubuh .....	8
2.1.1 Sistem Kekebalan Non Spesifik .....	8
2.1.2 Sistem Kekebalan Spesifik .....	9
2.1.3 Leukosit .....	10
2.1.4 Sebaran Leukosit .....	12
2.2 Stres Panas .....	13
2.3 Imunomodulator .....	15
2.4 Sambiloto .....	16
2.4.1 Klasifikasi Sambiloto .....	16
2.4.2 Morfologi dan Habitat .....	17
2.4.3 Kandungan Sambiloto sebagai Imunomodulator .....	18
2.5 Echinacea .....	19
2.5.1 Klasifikasi Echinacea .....	19
2.5.2 Morfologi dan Habitat .....	20
2.5.3 Kandungan Echinacea sebagai Imunomodulator .....	21
BAB 3 MATERI DAN METODE .....	22
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	22
3.2 Materi Penelitian .....	22
3.2.1 Bahan penelitian .....	22
3.2.2 Alat Penelitian .....	23
3.3 Metode Penelitian .....	23
3.3.1 Pembuatan sediaan Obat .....	23

3.3.2 Perlakuan Stres Panas .....	26
3.3.3 Pemberian Kombinasi AP dan EP .....	27
3.3.4 Pengambilan Sampel Darah pada Mencit .....	27
3.3.5 pemeriksaan Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit .....	27
3.4 Rancangan penelitian .....	28
3.5 Variabel penelitian .....	28
3.6 Analisis Data .....	29
3.7 Skema Penelitian .....	29
3.7.1 Bagan Penelitian .....	31
<b>BAB 4 HASIL .....</b>	<b>32</b>
4.1 Hasil Penghitungan dan Analisis Data Jumlah dan Jenis Leukosit pada hari ke-7 .....	32
4.1.1 Jumlah Leukosit .....	32
4.1.2 Jumlah Eosinofil .....	33
4.1.3 Jumlah Neutrofil (segmen) .....	33
4.1.4 Jumlah Limfosit .....	34
4.1.5 Jumlah Monosit .....	35
4.2 Hasil Penghitungan dan Analisis Data Jumlah dan Jenis Leukosit pada hari ke-14 .....	36
4.2.1 Jumlah Leukosit .....	36
4.2.2 Jumlah Eosinofil .....	37
4.2.3 Jumlah Neutrofil (segmen) .....	38
4.2.4 Jumlah Limfosit .....	38
4.2.5 Jumlah Monosit .....	39
4.3 Hasil Penghitungan dan Analisis Data Jumlah dan Jenis Leukosit pada hari ke-21 .....	40
4.3.1 Jumlah Leukosit .....	40
4.3.2 Jumlah Eosinofil .....	41
4.3.3 Jumlah Neutrofil (segmen) .....	42
4.3.4 Jumlah Limfosit .....	42
4.3.5 Jumlah Monosit .....	43
4.4 Hasil Penghitungan dan Analisis Data Jumlah dan Jenis Leukosit pada hari ke-28 .....	44
4.4.1 Jumlah Leukosit .....	45
4.4.2 Jumlah Eosinofil .....	45
4.4.3 Jumlah Neutrofil (segmen) .....	46
4.4.4 Jumlah Limfosit .....	47
4.4.5 Jumlah Monosit .....	47
<b>BAB 5 PEMBAHASAN .....</b>	<b>49</b>
5.1 Jumlah Leukosit .....	49
5.2 Jumlah Eosinofil .....	50
5.3 Jumlah Neutrofil .....	51
5.4 Jumlah Limfosit .....	51
5.5 Jumlah Monosit .....	52

<b>BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>56</b>
<b>6.1 Kesimpulan .....</b>	<b>56</b>
<b>6.2 Saran .....</b>	<b>56</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>58</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>60</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>64</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 4.1 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah leukosit pada hari ke-7 .....	32
Tabel 4.2 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah eosinofil pada hari ke-7 .....	33
Tabel 4.3 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah neutrofil (segmen) pada hari ke-7 .....	34
Tabel 4.4 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah limfosit pada hari ke-7 .....	34
Tabel 4.5 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah monosit pada hari ke-7 .....	35
Tabel 4.6 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah leukosit pada hari ke-14 .....	37
Tabel 4.7 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah eosinofil pada hari ke-14 .....	37
Tabel 4.8 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah neutrofil (segmen) pada hari ke-14 .....	38
Tabel 4.9 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah limfosit pada hari ke-14 .....	39
Tabel 4.10 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah monosit pada hari ke-14 .....	39
Tabel 4.11 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah leukosit pada hari ke-21 .....	41
Tabel 4.12 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah eosinofil pada hari ke-21 .....	41
Tabel 4.13 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah neutrofil (segmen) pada hari ke-21 .....	42
Tabel 4.14 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah limfosit pada hari ke-21 .....	43
Tabel 4.15 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah monosit pada hari ke-21 .....	43
Tabel 4.16 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah leukosit pada hari ke-28 .....	45
Tabel 4.17 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah eosinofil pada hari ke-28 .....	46
Tabel 4.18 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah neutrofil (segmen) pada hari ke-28 .....	46
Tabel 4.19 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah limfosit pada hari ke-28 .....	47
Tabel 4.20 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah monosit pada hari ke-28 .....	48

**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
Gambar 2.1 Sambiloto .....	18
Gambar 2.2 <i>Echinacea purpurea</i> .....	20
Gambar 4.1 Grafik rata-rata penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-7 .....	36
Gambar 4.2 Grafik rata-rata penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-14 .....	40
Gambar 4.3 Grafik rata-rata penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-21 .....	44
Gambar 4.4 Grafik rata-rata penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-28 .....	48

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Konversi dosis hewan dengan manusia .....	65
Lampiran 2. Gambar bahan dan alat penelitian .....	66
Lampiran 3. Prosedur penelitian .....	67
Lampiran 4. Kamar penghitung leukosit "Improved Neubauer" .....	68
Lampiran 5. Tabel hasil penghitungan Jumlah dan jenis leukosit mencit .	69
Lampiran 6. Hasil pemeriksaan preparat hapusan darah .....	71
Lampiran 7. Analisis data jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-7 menggunakan ANAVA dan Uji Tukey .....	72
Lampiran 8. Analisis data jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-14 menggunakan ANAVA .....	75
Lampiran 9 Analisis data jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-21 menggunakan ANAVA dan Uji Tukey .....	76
Lampiran 10 Analisis data jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-28 menggunakan ANAVA .....	79

## SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

ACTH	: adenocorticotropin hormon
AKR/J	: jenis mencit laboratorium yang banyak digunakan dalam penelitian kanker dan imunologi.
AP	: <i>Andrographis paniculata</i>
BALB/C	: strain mencit rumah yang albino dan khusus dikembangkan untuk penelitian laboratorium
cm	: sentimeter
CMC	: <i>Carboxymethylcellulose</i>
CRF	: <i>chorticotrophin releasing factor</i>
EDTA	: <i>Ethilenediaminetetraacetic acid</i> (antikoagulan yang digunakan untuk analisa darah)
EP	: <i>Echinaceae purpurea</i>
HPA	: Hipotalamus pituitari adrenal
HS	: Hipotalamus simpatis
IFN	: interferon
ITIS	: <i>Integrated Taxonomic Information System</i>
ml	: mililiter
NCCAM	: <i>National Center for Complementary and Alternative Medicine</i>
NK	: <i>natural killer</i>
PMN	: polimorfonuklear
Sel K562	: kultur sel myelogenous leukemia pada manusia
TNF	: <i>tumor necrosis factor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
$\mu$ l	: mikroliter
$^{\circ}$ C	: derajat Celcius

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**



## **BAB 1 PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Setiap makhluk hidup selalu melakukan proses homeostatis, yang bertujuan untuk menjaga kondisi faali dalam tubuhnya. Proses homeostasis ini ditunjang oleh berbagai sistem dalam tubuh yang saling bekerja sama dalam menjaga kondisi faali tubuh dari berbagai ancaman, baik yang berasal dari dalam tubuh sendiri maupun yang berasal dari luar tubuh. Dalam tubuh hewan dan manusia terdapat suatu sistem yang memiliki fungsi menjaga kesehatan hewan atau manusia. Sistem ini dikenal dengan sistem kekebalan atau sistem imun.

Pada sejarahnya, sistem imun telah dikenal sebagai pertahanan terhadap penyakit menular (infeksi). Telah jelas bahwa mekanisme yang memberi perlindungan terhadap penyakit juga bekerja saat tubuh mengalami reaksi terhadap zat yang tidak berbahaya. Reaksi tersebut dapat terjadi saat zat yang tidak dibentuk di tubuh (zat “asing”) dari luar masuk ke tubuh (Pinchuk, 2002).

Terdapat dua sistem imun yang berbeda, yaitu sistem kekebalan bawaan dan adaptif, yang saling bekerja sama maupun secara terpisah dalam menjaga tubuh. Sistem kekebalan bawaan memberikan pertahanan pertama terhadap substansi asing. Sistem ini tidak spesifik, cepat, tidak memiliki memori imunologis, dan biasanya hanya berlangsung dalam durasi yang singkat. Sistem kekebalan adaptif memiliki spesifitas yang sangat baik, lebih lambat

dalam perkembangannya, memiliki memori imunologis, dan berlangsung lebih lama (Folds, 2008).

Sistem kekebalan dalam tubuh harus selalu dalam kondisi siaga untuk mencegah terjadinya kondisi sakit. Menurunnya kemampuan sistem imun dapat berakibat buruk bagi tubuh. Penurunan ini dapat terjadi karena berbagai hal, salah satunya adalah kondisi stres. Telah cukup penelitian pada manusia dan hewan yang membuktikan bahwa stres, seperti aktivitas yang berat dan paparan suhu dingin dapat menurunkan sistem kekebalan (Räberg *et. al.*, 1998). Stres, misalnya aktivitas yang berat, paparan suhu dingin, infeksi, atau trauma dapat mengaktifkan poros hipotalamus pituitari adrenal, sehingga mengakibatkan meningkatnya level glukokortikoid steroid. Selain mempengaruhi sistem metabolisme dan kardiovaskuler, glukokortikoid juga memiliki efek immunosupresif (Räberg *et. al.*, 1998).

Untuk mengetahui apakah hewan mengalami stres, dapat dilakukan tes tertentu. Wilkelski & Cooke (2006) serta Romero (2004) dalam Davis, *et. al.* (2008) menyatakan metode terkenal untuk menilai stres fisiologis, yaitu dengan penghitungan kadar hormon glukokortikoid adrenal misalnya kortikosteron dalam plasma. Dalam review yang ditulis Davis, *et. al.* (2008), dinyatakan bahwa penggunaan parameter hematologi seperti penghitungan relatif sel darah putih dari preparat hapusan darah dapat digunakan sebagai metode untuk menilai stres fisiologis. Metode ini dapat menjadi alternatif untuk menghitung kadar kortikosteron karena meningkatnya kadar hormon glukokortikoid dapat menyebabkan perubahan khas pada komponen leukosit

vertebrata yang dapat dihitung dan berhubungan dengan kadar hormon. Lebih jauh lagi, metode ini memiliki beberapa kelebihan, antara lain metode ini tidak membutuhkan pengambilan sampel yang sangat banyak dan cenderung murah.

Chrousos dan Gold (1992, dalam Salak-Johnson dan McGlone, 2006) mendefinisikan stres sebagai “sebuah keadaan homeostasis yang tidak harmonis, atau terancam.” Stres menentang homeostasis, tapi tidak menggangukannya, pada individu yang mampu beradaptasi. Homeostasis mengendalikan mekanisme yang merupakan reaksi pertama dan terpenting dalam menjaga lingkungan lokal seluler agar mampu menghadapi berbagai stresor. Kegagalan beradaptasi merupakan ketidakmampuan untuk menghadapi stres, dan jika terus berlanjut, dapat berakibat kematian (Salak-Johnson dan McGlone, 2006). Dhabhar (2006) menyatakan bahwa stres dan hormon stres dapat menyebabkan perubahan signifikan pada jumlah dan proporsi relatif leukosit pada darah. Stres panas dapat menyebabkan penurunan jumlah leukosit dalam darah (Settivari, 2007).

Apabila terjadi serangan pada tubuh saat tubuh sedang tidak siap, maka infeksi dapat terjadi. Untuk menghindari kondisi ini, sistem pertahanan tubuh harus selalu dalam keadaan siap dan mencukupi. Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi sistem kekebalan adalah imunomodulator. Imunomodulator dapat didefinisikan sebagai suatu substansi, baik biologis maupun sintesis, yang dapat menstimulasi, menekan atau mengatur salah satu dari komponen sistem kekebalan, baik respon kekebalan spesifik maupun non spesifik (Agrawal dan Singh, 1999). Imunomodulator berfungsi mencegah

perkembangan infeksi menjadi penyakit serta mencegah timbulnya infeksi sekunder (Vora, 2007).

Beberapa produk yang bekerja sebagai imunomodulator telah banyak beredar di masyarakat, salah satunya adalah Neoboost, yang mengandung ekstrak tanaman *Echinacea purpurea* dan *Andrographis paniculata*. Kedua tanaman tersebut dipercaya dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Namun demikian, produk tersebut masih harus melewati uji laboratoris agar dapat dinilai layak untuk dikonsumsi secara luas.

Berdasarkan pertimbangan di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian imunomodulator dengan bahan dasar sambiloto dan echinaceae terhadap jumlah dan diferensial sel darah putih mencit yang diberi stres panas.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dikemukakan rumusan masalah, yaitu:

1. Apakah terdapat pengaruh pemberian kombinasi sambiloto (*Andrographis panniculata*) dan *Echinaceae purpurea* sebagai imunomodulator terhadap jumlah leukosit mencit yang dibuat stres dengan panas.
2. Apakah terdapat pengaruh pemberian kombinasi sambiloto (*Andrographis panniculata*) dan *Echinaceae purpurea* sebagai imunomodulator terhadap jenis leukosit mencit yang dibuat stres dengan panas.

### 1.3 Landasan Teori

Sistem kekebalan merupakan sistem yang penting dalam tubuh, yang memiliki aktivitas terus menerus dalam tubuh. Sistem kekebalan merupakan mekanisme pertahanan yang luar biasa. Sistem tersebut membentuk respon cepat, spesifik, dan perlindungan melawan banyak mikroorganisme patogen yang ada (Paul, 2008). Sistem kekebalan harus selalu dalam keadaan seimbang agar tidak terjadi gangguan. Gangguan terhadap sistem kekebalan dapat disebabkan oleh penyebab primer misalnya kelainan sejak lahir, atau penyebab sekunder misalnya infeksi, gizi buruk, dan penyakit ganas seperti kanker, leukimia, serta obat-obatan seperti obat yang mengandung hormon kortikosteroid, dan obat kanker (Paul, 2008).

Pada dasarnya, tubuh memiliki zat yang secara alami akan melakukan penyeimbangan sistem kekebalan ke arah normal bila terjadi gangguan. Namun, ada kalanya tubuh tidak berhasil melakukan penyeimbangan sistem kekebalan ke keadaan normal. Pada keadaan di mana jumlah dan fungsi sel-sel yang bertanggung jawab dalam sistem kekebalan kurang, upaya peningkatan melalui pemberian imunomodulator menjadi sangat vital (Kusmardi dkk., 2007).

Imunomodulator adalah suatu substansi, baik biologis maupun sintetis, yang dapat menstimulasi, menekan atau mengatur salah satu dari komponen sistem kekebalan, baik respon kekebalan spesifik maupun non spesifik (Agrawal dan Singh, 1999). Imunomodulator berfungsi mencegah

perkembangan infeksi menjadi penyakit serta mencegah timbulnya infeksi sekunder (Vora, 2007).

Saat ini, banyak produk imunomodulator yang beredar di pasaran. Produk imunomodulator tersebut pada umumnya mengandung bahan herbal yang dianggap memiliki efek imunomodulator. Salah satu bahan tersebut adalah sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan *Echinacea purpurea*. Kedua tanaman ini dipercaya memiliki efek imunomodulator.

Karena hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menguji efek kandungan imunomodulator dengan kandungan sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan *Echinacea purpurea* yang beredar di masyarakat terhadap gambaran jumlah dan jenis leukosit mencit.

#### 1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan *Echinaceae purpurea* sebagai imunomodulator terhadap jumlah leukosit mencit yang dibuat stres dengan panas.
2. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan *Echinaceae purpurea* sebagai imunomodulator terhadap jenis leukosit mencit yang dibuat stres dengan panas.

### 1.5 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang efek kombinasi *Andrographis paniculata* dan *Echinacea purpurea* yang bekerja sebagai imunomodulator yang bermanfaat dalam meningkatkan kekebalan tubuh pada saat tubuh mengalami penurunan respon imun.

### 1.6 Hipotesis

Berdasarkan perumusan masalah, maka dapat diajukan hipotesis sebagai berikut:

1. Terdapat pengaruh pemberian kombinasi sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan *Echinacea purpurea* sebagai imunomodulator terhadap jumlah leukosit mencit yang dibuat stres dengan panas.
2. Terdapat pengaruh pemberian kombinasi sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan *Echinacea purpurea* sebagai imunomodulator terhadap jenis leukosit mencit yang dibuat stres dengan panas.

## **BAB 2**

# TINJAUAN PUSTAKA



## **BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Sistem Kekebalan Tubuh**

#### **2.1.1 Sistem Kekebalan Non Spesifik**

Kekebalan merupakan sistem yang kompleks dari reaksi-reaksi pertahanan dalam tubuh. Reaksi tersebut dapat berupa bawaan atau perolehan. Kekebalan bawaan (alami) dinyatakan sebagai kerja mekanisme yang telah ada sebelum masuknya zat asing. Hal ini termasuk barrier fisik seperti kulit dan lapisan mukosa, zat-zat kimia (biasanya protein) yang menetralkan mikroorganisme dan partikel asing lain; serta sel-sel khusus yang menangkap dan mencerna partikel asing. Mekanisme kekebalan bawaan bersifat tidak spesifik, sehingga mekanisme ini tidak membedakan macam-macam zat asing yang masuk. Mekanisme ini juga bersifat tidak adaptif, artinya sifat atau kualitas reaksi terhadap zat asing tidak berubah meskipun tubuh terpapar zat asing tersebut berulang-ulang (Pinchuk, 2002).

Sistem kekebalan bawaan bekerja pada keadaan di mana sistem kekebalan perolehan tidak bekerja, namun sangat berhubungan erat. Sistem kekebalan ini memiliki sifat khas yaitu respon yang cepat terhadap patogen atau benda asing atau sel-sel mati. Selain itu, responnya tidak spesifik dan biasanya hanya berlangsung sebentar. Respon kekebalan bawaan juga berperan penting dalam membentuk

respon kekebalan adaptif yang spesifik dan berlangsung lama (Folds, 2008).

Komponen-komponen sistem kekebalan alami terdiri dari barier epitel, fagosit, sel *natural killer* (*NK Cell*), sistem komplemen, serta protein efektor lainnya (Abbas dan Lichtman, 2003). Komponen seluler pada kekebalan bawaan meliputi beberapa tipe sel, di mana sebagian besar ditemukan pada lokasi-lokasi kemungkinan masuknya patogen. Contoh sel-sel tersebut adalah sel *natural killer* (*NK cell*), neutrofil polimorfonuklear (PMN), makrofag, dan sel dendrit (Folds, 2008).

### **2.1.2 Sistem Kekebalan Spesifik**

Kekebalan spesifik atau perolehan dapat dijelaskan sebagai reaksi yang disebabkan masuknya zat asing tertentu. Unsur yang bekerja dalam reaksi ini telah ada sebelum masuknya zat asing, namun reaksinya sendiri terjadi sebagai respon terhadap masuknya zat asing tertentu (disebut antigen) ke dalam tubuh, dan merubah besar serta konsentrasinya sesuai dengan masuknya antigen (Pinchuk, 2002).

Berbeda dengan kekebalan bawaan, kekebalan perolehan bersifat fleksibel, spesifik, dan memiliki memori imunologis, sehingga memungkinkan untuk merespon lebih cepat dan lebih kuat saat terpapar antigen. Kekebalan spesifik atau adaptif lebih kompleks karena kekebalan ini memiliki kemampuan untuk merespon dengan sangat spesifik. Respon kekebalan bawaan dan perolehan saling

berinteraksi dengan efektif untuk membentuk mekanisme pertahanan tubuh terhadap benda asing atau sel host yang rusak (Folds, 2008).

Kerjasama antara kedua sistem kekebalan di atas sangat dibutuhkan untuk membentuk sistem pertahanan terhadap patogen yang masuk. Respon kekebalan bawaan, melalui barrier dan reaksi yang bersifat luas, memberikan perthanan pertama terhadap patogen. Saat sistem kekebalan tersebut teraktivasi, sistem kekebalan perolehan juga teraktivasi. Terdapat banyak interaksi antara kedua sistem kekebalan tersebut, yang menghasilkan respon yang lebih kuat pada tiap sistem dan pada akhirnya mampu menghancurkan dan mengeliminasi patogen yang masuk (Folds, 2008).

### 2.1.3 Leukosit

Yang disebut dengan leukosit adalah semua sel darah putih dan sel prekursor. Leukosit diedarkan melalui aliran darah dari tempat pembentukannya ke berbagai jaringan tubuh. (Schalm *et al.*, 1975). Sel darah putih dapat dibedakan menjadi dua kelompok karakteristik, granulosit yang terdiri dari neutrofil, eosinofil, dan basofil; serta agranulosit, yang terdiri dari limfosit dan monosit (Kerr, 2002).

Neutrofil merupakan turunan dari prekursor yang sama dengan monosit. Sitoplasmanya mengandung granula, nukleus memiliki 3-4 segmen (Provan *et al.*, 2004). Neutrofil atau disebut juga leukosit polimorfonuklear merupakan komponen terbesar dari sel darah putih yang ada pada peredaran darah dan memulai fase awal respon

keradangan (Abbas dan Lichtman, 2003). Neutrofil merupakan komponen penting pada respon keradangan yang membentuk respon kekebalan dan berperan dalam kerusakan dan perbaikan jaringan (Desai *et al.*, 2010).

Eosinofil dan basofil merupakan sel-sel efektor pada sistem kekebalan bawaan yang memiliki peran utama pada patogenesis keradangan alergi dan memberikan respon kekebalan pada infeksi parasit cacing (Desai *et al.*, 2010). Eosinofil berperan penting dalam respon alergi dan mampu melakukan fagositosis. Basofil berhubungan erat dengan jaringan sel mast dan memiliki fungsi melepaskan granula yang berisi histamin yang kemudian memulai respon keradangan (Kerr, 2002).

Tidak seperti jenis sel darah lainnya, limfosit utamanya berkembang di luar sumsum tulang, pada limfonodul, limpa, dan jaringan limfoid yang berhubungan dengan usus (pada hewan muda juga pada thymus). Limfosit dewasa memiliki ukuran yang paling kecil dibandingkan sel darah putih yang ada dalam peredaran darah. Inti leukosit pada umumnya berbentuk bulat, sitoplasmanya sangat tipis. Fungsi utama limfosit adalah kekebalan tubuh, yaitu pembentukan antibodi humoral dan kekebalan yang dimediasi sel (Kerr, 2002).

Monosit pada peredaran darah tepi memiliki peran penting dalam pertahanan tubuh terhadap patogen yang masuk dan pengaktifan

sistem kekebalan bawaan (Selkirk, *et. al.*, 2009). Monosit dibentuk di sumsum tulang belakang kemudian dikeluarkan ke peredaran darah dan tetap berada di peredaran darah selama 2-3 hari sebelum akhirnya berpindah ke jaringan dan menjadi makrofag. Fungsi utama monosit dan makrofag adalah fagositosis, utamanya untuk benda yang lebih besar, misalnya debris jaringan dan patogen yang lebih kompleks misalnya fungi, protozoa, dan *Brucella spp.* (Kerr, 2002).

#### 2.1.4 Sebaran Leukosit

Untuk mengetahui perubahan jumlah sel darah putih, maka perlu dilakukan penghitungan jumlah sel darah putih dalam tubuh. Penghitungan jenis leukosit dikemukakan dalam persen maupun jumlah mutlak tiap jenis sel per  $\mu\text{l}$  darah. Respon terhadap penyakit lebih terlihat jelas bila dilihat dari jumlah mutlak penghitungan sel darah putih. Perubahan penghitungan jumlah leukosit selama penyakit berlangsung merupakan gambaran stres sistemik dan partisipasi bermacam-macam jenis leukosit yang memberi respon terhadap hal tersebut (Schalm *et al.*, 1975). Pada mencit, jumlah normal sel darah putih berkisar antara  $5-15 \times 10^3$  sel per  $\mu\text{l}$  darah.

Umumnya, neutrofil dan limfosit menduduki persentase terbesar (hampir mencapai 80%) dari jumlah leukosit pada mamalia, unggas, amfibi, dan reptil. Jumlah limfosit pada mencit berkisar antara 35-90% dari jumlah leukosit dalam darah. Nilai mutlak leukosit pada mencit betina berumur 3 bulan adalah  $5631 \pm 2075$  sel per  $\mu\text{l}$  darah

(Schalms *et al.*, 1975). Neutrofil merupakan sel fagosit utama, dan menggandakan diri dalam peredaran darah sebagai respon terhadap infeksi, peradangan, dan stres. Pada mencit, jumlah neutrofil dalam darah berkisar antara 10-20% dari jumlah leukosit. Jumlah mutlak neutrofil per  $\mu\text{l}$  darah adalah  $1026 \pm 351$  sel. Sebanyak 20% dari jumlah leukosit merupakan gabungan dari jumlah eosinofil (berperan pada proses peradangan dan pertahanan terhadap parasit), monosit (fagosit berumur lama yang berperan pada pertahanan terhadap infeksi dan bakteri), serta basofil (Davis, *et al.* 2008). Jumlah mutlak penghitungan eosinofil per  $\mu\text{l}$  darah adalah  $135 \pm 102$  sel, jumlah monosit adalah  $108 \pm 68$  sel (Schalms *et al.*, 1975).

## 2.2 Stress Panas

McEwen (2000, dalam Salak-Johnson dan McGlone, 2006) mendefinisikan stres sebagai sebuah “ancaman yang nyata atau yang ditafsirkan oleh tubuh terhadap integritas fisiologis atau psikologis yang berakibat pada respon fisiologis dan/atau tingkah laku.” Untuk membedakan efek pertahanan dan membahayakan dari stres, McEwen memperkenalkan istilah “allostasis”. Allostasis merupakan proses adaptif yang menjaga homeostasis melalui produksi mediator seperti adrenalin, kortisol, dan pembawa yang lain (McEwen, 2005 dalam Salak-Johnson dan McGlone, 2006). Mediator-mediator tersebut memulai adaptasi, tetapi juga dapat berakibat pada kelebihan allostasis, jika digunakan pada tingkatan yang lebih

tinggi atau lebih lama. Saat hewan mengalami kelebihan allostatic, ketidakmampuan tubuh beradaptasi dapat terlihat melalui munculnya penyakit infeksi, metabolik, maupun mental (Salak-Johnson dan McGlone, 2006).

Seperti halnya *animal welfare*, stres sulit dijelaskan dengan baik, namun kita dapat mengetahuinya dengan melihat hewan yang mengalaminya (Salak-Johnson dan McGlone, 2006). Dhabhar (2002) mendefinisikan stres akut sebagai stres yang berlangsung selama beberapa menit sampai jam, dan stres kronis sebagai stres yang berlangsung selama beberapa jam sehari, selama beberapa minggu atau bulan. Stres dapat mengaktifkan aksis hipotalamus-pituitari-adrenal sehingga kadar steroid glukokortikoid dalam plasma meningkat (Räberg *et. al.*, 1998). Sistem hipotalamus simpatis (HS) dan sistem hipotalamus-pituitari-adrenal (HPA) memiliki peran dalam mengendalikan respon stres otak dan syaraf tepi (Salak-Johnson dan McGlone, 2006).

Saat aktif, HPA dapat mensekresikan *corticotrophin releasing factor* (CRF) yang menyebabkan sel-sel endokrin pada kelenjar pituitari posterior merespon dengan membentuk dan mengeluarkan proopiomelanocortin atau produk-produknya (hormon adenocorticotropin/ ACTH, dan melanosit stimulating hormon). ACTH memicu korteks adrenal untuk mensekresikan glukokortikoid (Salak-Johnson dan McGlone, 2006). Glukokortikoid dapat memicu beberapa efek pada tubuh, misalnya memelihara homeostasis selama

stres. Namun glikokortikoid juga memiliki efek immunosupresan (Råberg *et al.*, 1998).

Salah satu jenis stres adalah stres panas. Stres panas dapat ditandai dengan adanya rasa tidak nyaman dan ketegangan fisiologis yang berhubungan dengan paparan terhadap lingkungan yang panas (Bouchama dan Knochel, 2002). Joseph *et al.* (1991) dalam Settivari (2007) menyatakan bahwa terdapat penurunan jumlah leukosit dan neutrofilia, eosinofilia dan limfositopenia pada tikus yang diberi stres panas pada suhu 40<sup>0</sup>C selama 30 menit.

### 2.3 Immunomodulator

Imunomodulator adalah suatu substansi, baik biologis maupun sintetis, yang dapat menstimulasi, menekan atau mengatur salah satu dari komponen sistem kekebalan, baik respon kekebalan spesifik maupun non spesifik (Agrawal dan Singh, 1999). Immunomodulator berfungsi mencegah perkembangan infeksi menjadi penyakit serta mencegah timbulnya infeksi sekunder (Vora, 2007).

Dalam pandangan klinis, immunomodulator dapat digolongkan menjadi tiga kelompok, yaitu immunoadjuvan, immunosupresan, dan immunostimulan (Agrawal dan Singh, 1999).

- Immunoadjuvan merupakan bahan yang digunakan untuk meningkatkan efisiensi vaksin, dan karena itu dapat disebut sebagai immunostimulan



spesifik. Salah satu contoh terbaik adalah adjuvan Freud yang telah digunakan dalam banyak jenis vaksin.

- Imunosupresan dapat digunakan untuk mengendalikan respon kekebalan patologis seperti pada penyakit autoimun, penolakan pencangkokan, reaksi kekebalan hipersensitif, dan kekebalan patologis akibat infeksi. Umumnya, bahan imunosupresan digunakan untuk pencegahan penolakan pada cangkok jaringan dan organ, serta pengobatan pada penyakit-penyakit autoimun.
- Immunostimulan merupakan bahan yang diharapkan mampu meningkatkan resistensi tubuh terhadap infeksi. Secara alamiah bahan ini tidak spesifik, namun mampu meningkatkan respon imun baik spesifik maupun non spesifik. Pada individu sehat, agen immunostimulan diharapkan mampu berperan sebagai bahan yang mampu meningkatkan level dasar respon kekebalan. Sedangkan pada individu yang memiliki insufisiensi respon kekebalan, bahan ini berperan sebagai bahan immunoterapi.

## 2.4 Sambiloto

### 2.4.1 Klasifikasi Sambiloto

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) merupakan tanaman obat tradisional yang banyak digunakan di Cina, India, dan Asia Tenggara (Xu, 2009). Sambiloto memiliki rasa yang pahit. Berikut ini merupakan klasifikasi Sambiloto berdasarkan ITIS Taxonomy (2010).

Kingdom : Plantae

- Divisi : Magnoliophyta - Angiospermae  
Kelas : Magnoliopsida - Dicotyledonae  
Ordo : Scrophulariales  
Famili : Acanthaceae  
Genus : *Andrographis*  
Spesies : *A. paniculata*

#### 2.4.2 Morfologi dan Habitat

Sambiloto dapat tumbuh dengan baik pada berbagai topografi dan jenis tanah. Sambiloto tumbuh baik pada curah hujan 2000-3000 mm per tahun, suhu 25-32<sup>0</sup> C, serta kelembaban 70-90% (Pujiasmanto, dkk, 2007). Tanaman ini merupakan tumbuhan tahunan, bercabang banyak, tinggi 0,5-1 m, dan akar berserabut. Daunnya berwarna hijau dan menyirip, besarnya 3-7 cm x 1-2,3 cm, berbentuk oval dengan tepi yang agak bergelombang, dan ujung yang meruncing. Bunganya kecil dan terpisah sendiri-sendiri, corollanya berwarna putih agak merah jambu dan berambut. Buah sambiloto berbentuk kapsul panjang dan tajam pada kedua ujungnya, dan bijinya banyak. Sambiloto banyak tumbuh di Asia Selatan bagian timur seperti India, Sri Lanka, Pakistan, dan Indonesia. Pada umumnya tanaman ini dapat ditemukan pada berbagai tingkatan vegetatif. Sambiloto mudah ditumbuhkan dari bijinya pada berbagai jenis tanah (Niranjan, *et al.*, 2010). Daun sambiloto merupakan bagian yang paling umum digunakan sebagai

obat, namun seluruh bagian tanaman, termasuk akar, telah digunakan sebagai obat (WHO, 2002 dalam Xu, 2009).



Gambar 2.1. Sambiloto (Sumber: Jarukarmjorn dan Nemoto, 2008)

#### 2.4.3 Kandungan Sambiloto sebagai Imunomodulator

Sambiloto mengandung berbagai bahan, salah satunya andrographolide. Zat ini meningkatkan induksi sel-sel mononuklear darah tepi terhadap *tumor necrosis factor* (TNF)- $\alpha$ , interferon (IFN)- $\alpha$ , dan IFN- $\gamma$ , meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag peritoneal pada babi terhadap eritrosit ayam, serta meningkatkan toksisitas yang dimediasi sel NK dari sel-sel mononuklear darah tepi untuk merusak sel K562. Hasil tersebut menunjukkan bahwa andrographolide dapat bertindak sebagai imunostimulan yang mampu menstimulasi baik fungsi kekebalan spesifik maupun tidak spesifik melalui sel NK, makrofag, dan induksi sitokin (Jarukarmjorn dan Nemoto, 2008).

Ekstrak dan andrographolide murni telah terbukti mampu menstimulasi respon kekebalan bawaan pada mencit. Kemampuan imunomodulatoris *diterpene lactone* andrographolide disebut berhubungan dengan peningkatan proliferasi limfosit pada darah tepi manusia dan produksi sitokin utama serta ekspresi aktivator kekebalan, misalnya IFN- $\gamma$ , neopterin, dan  $\beta$ -2-microglobulin pada kultur darah *in vitro* (Panossian *et al.*, 2002 dalam Xu, 2009).

## 2.5 Echinaceae

### 2.5.1 Klasifikasi Echinacea

Secara taksonomi, Echinacea digolongkan menjadi sembilan spesies, dimana spesies-spesies tersebut merupakan tanaman diploid kecuali *E. pallida* yang merupakan tanaman poliploid (Flagel *et al.*, 2008). Berikut ini merupakan klasifikasi echinacea berdasarkan ITIS Taxonomy (2010).

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta - Angiosperma

Kelas : Magnoliopsida - Dicotyledons

Ordo : Asterales

Famili : Asteraceae

Genus : Echinacea

Spesies : *Echinacea purpurea*

### 2.5.2 Morfologi dan Habitat

*Echinacea purpurea* dapat tumbuh hingga mencapai ketinggian 2-3 kaki, dengan batang yang keras dan berbulu. Daun tanaman ini berbulu lebat, mencuat dari batangnya, dan memiliki panjang 3-8 inci. Bunganya muncul pada bulan Juli sampai Oktober, dengan warna yang bervariasi dari ungu pucat sampai ungu tua. Kelopak bunganya melingkari bentukan kerucut yang tinggi. Akarnya meruncing, silindris, dan beralur longitudinal (The United States Department of Agriculture/USDA, 2001).



Gambar 2.2 *Echinacea purpurea*  
(Sumber: USDA Plant Profiles, diakses pada 10 Agustus 2010)

*Echinacea purpurea* L. merupakan salah satu tanaman herba yang penting dan tergolong jenis Asteraceae yang secara alami tumbuh di Amerika Utara, yang banyak digunakan dalam bidang farmakologi

(Lee et al., 2010). *Echinacea purpurea* dapat ditemukan pada hutan-hutan terbuka dan semak belukar, serta ditanam pada kebun-kebun di Michigan, Ohio sampai Louisiana, serta di Texas dan Oklahoma (The United States Department of Agriculture, 2001).

### 2.5.3 Kandungan *Echinacea* sebagai Imunomodulator

*Echinacea purpurea* dan *Echinacea angustifolia* telah diketahui dapat mengaktifkan sistem kekebalan spesifik dan non spesifik, serta sistem komplemen (Kim, et al., 2002). Penelitian yang dilakukan oleh Bauer et al. (1988, dalam Spence, 2002) menunjukkan bahwa ekstrak dalam air dan etanol dari akar *E. purpurea*, *E. pallida*, dan *E. angustifolia* dapat meningkatkan fagositosis secara nyata.

Polisakarida yang diisolasi dari kultur sel *E. purpurea* dapat mengaktifkan sitotoksik varietas luas dan fungsi sekretoris makrofag manusia *in vitro* (Spence, 2002). Lebih jauh lagi, secara *in vivo*, polisakarida yang diberikan secara intravena dapat menginduksi peningkatan proliferasi fagosit pada limpa dan tulang belakang serta migrasi granulosit ke peredaran darah tepi, yang berakibat pada pertahanan tubuh yang kuat terhadap infeksi mematikan *Listeria monocytogenes* dan *C. albicans* pada mencit (Roesler et al., 1991 dalam Spence, 2002).

## **BAB 3**

# **MATERI DAN METODE**

## BAB 3 MATERI DAN METODE

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga mulai bulan Agustus sampai September 2010.

### 3.2 Materi Penelitian

#### 3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan selama penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) betina sebanyak 70 ekor dengan berat badan antara 20-30 gram, produk imunomodulator dengan merk dagang Neoboost produksi PT Darya Varia Lab, Tbk., Gunung Putri, Bogor, yang mengandung ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan *Echinacea purpurea*. CMC (*Carboxymethylcellulose*) 0,5%, alkohol 70%, aquades, ether, dan larutan fisiologis. Dosis yang digunakan adalah dosis manusia Indonesia dengan berat badan 50 kg, yakni 1 kapsul/orang/hari, sehingga untuk mencit dengan berat badan 20 g didapatkan dosis pertama sebesar 0,00364 kapsul/ekor/hari. Dosis kedua merupakan dua kali dosis pertama, dan dosis ketiga merupakan dua kali dosis kedua. Untuk pemeriksaan penghitungan jumlah dan diferensial leukosit, digunakan bahan antara lain EDTA, larutan pengencer Turk, pewarna Wright, dan minyak emersi.



### 3.2.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan selama penelitian ini adalah kandang mencit beserta tempat makan dan minum, spuit 3 cc, sonde, tabung reaksi dan rak, *disposable hand gloves*, gelas ukur, tabung elenmeyer, lemari pendingin, mortar, gelas objek, kamar penghitung, mikroskop, dan alat tulis.

Untuk stres panas digunakan ruangan dengan ukuran panjang 130 cm, lebar 75 cm, dan tinggi 50 cm yang terbuat dari papan kayu. Sebagai sumber panas digunakan enam bola lampu pijar dengan kekuatan masing-masing sebesar 60 watt.

## 3.3 Metode Penelitian

### 3.3.1 Pembuatan Sediaan Obat

Obat yang digunakan adalah obat jadi dengan merk dagang Neoboost. Tiap kapsul obat mengandung 500 mg kombinasi ekstrak *Echinacea purpurea* dan *Andrograpis paniculata*. Dosis obat yang disarankan untuk manusia adalah 1 kapsul/orang/hari, dengan asumsi berat orang yang meminum adalah 50 kg. Dosis ini kemudian dikonversikan menjadi dosis pada manusia dengan berat 70 kg, sehingga menjadi 1,4 kapsul/orang/hari. Dari dosis tersebut kemudian dikonversikan menjadi dosis mencit dengan berat 20 gram dengan faktor pengali sebesar 0,0026, sehingga ditemukan dosis 0,00364 kapsul/ekor/hari, yang kemudian disebut sebagai dosis P1. Dosis P2

merupakan dua kali dosis P1, dan dosis P3 merupakan dua kali dosis P2.

Sediaan obat yang mulanya berupa kapsul dibuat menjadi sediaan suspensi untuk memudahkan pemberian pada mencit. Kapsul obat dihancurkan kemudian disuspensikan dalam CMC 0,5%. Jumlah suspensi disesuaikan dengan masing-masing dosis, dengan pemberian sediaan cair pada mencit adalah 0,5 ml per hari.

- Dosis P1 (0,00364 kapsul/ekor/hari)

Jumlah mencit yang diberi perlakuan adalah 17 ekor, sehingga jumlah kapsul yang dipergunakan untuk dosis P1 setiap hari adalah sebesar  $17 \times 0,00364 \text{ kapsul} = 0,06188 \text{ kapsul/hari}$ .

Sediaan dibuat untuk jangka waktu selama 7 hari, sehingga jumlah kapsul yang dipergunakan untuk dosis P1 setiap minggu adalah  $7 \times 0,06188 \text{ kapsul} = 0,43316 \text{ kapsul}$  untuk 17 ekor mencit tiap minggu.

Pemberian sediaan cair untuk tiap ekor mencit adalah sebanyak 0,5 ml, sehingga untuk 17 ekor mencit selama 7 hari, jumlah sediaan cair yang diberikan adalah sebesar 59,5 ml. Jadi, 0,43316 kapsul disuspensikan dengan CMC 0,5% menjadi sediaan cair sebanyak 59,5 ml.

Karena sediaan obat yang tersedia berbentuk *soft capsule*, maka pembuatan sediaan dihitung untuk setiap kapsul. Untuk dosis P1, 1 kapsul disuspensikan menjadi sediaan cair sebanyak:

$$\frac{1}{0,43316} \times 59,5 \text{ ml} = 137,36 \text{ ml}$$

- Dosis P2 (0,00728 kapsul/ekor/hari)

Jumlah mencit yang diberi perlakuan adalah 17 ekor, sehingga jumlah kapsul yang dipergunakan untuk dosis P2 setiap hari adalah sebesar  $17 \times 0,00728 \text{ kapsul} = 0,12376 \text{ kapsul/hari}$ .

Sediaan dibuat untuk jangka waktu selama 7 hari, sehingga jumlah kapsul yang dipergunakan untuk dosis P2 setiap minggu adalah  $7 \times 0,12376 \text{ kapsul} = 0,86632 \text{ kapsul}$  untuk 17 ekor mencit tiap minggu.

Pemberian sediaan cair untuk tiap ekor mencit adalah sebanyak 0,5 ml, sehingga untuk 17 ekor mencit selama 7 hari, jumlah sediaan cair yang diberikan adalah sebesar 59,5 ml. Jadi, 0,86632 kapsul disuspensikan dengan CMC 0,5% menjadi sediaan cair sebanyak 59,5 ml.

Karena sediaan obat yang tersedia berbentuk *soft capsule*, maka pembuatan sediaan dihitung untuk setiap kapsul. Untuk dosis P2, 1 kapsul disuspensikan menjadi sediaan cair sebanyak:

$$\frac{1}{0,86632} \times 59,5 \text{ ml} = 68,68 \text{ ml}$$

- Dosis P3 (0,01456 kapsul/ekor/hari)

Jumlah mencit yang diberi perlakuan adalah 17 ekor, sehingga jumlah kapsul yang dipergunakan untuk dosis P3 setiap hari adalah sebesar  $17 \times 0,01456 \text{ kapsul} = 0,24752 \text{ kapsul/hari}$ .

Sediaan dibuat untuk jangka waktu selama 7 hari, sehingga jumlah kapsul yang dipergunakan untuk dosis P3 setiap minggu adalah  $7 \times 0,24752$  kapsul = 1,73264 kapsul untuk 17 ekor mencit tiap minggu.

Pemberian sediaan cair untuk tiap ekor mencit adalah sebanyak 0,5 ml, sehingga untuk 17 ekor mencit selama 7 hari, jumlah sediaan cair yang diberikan adalah sebesar 59,5 ml. Jadi, 1,73264 kapsul disuspensikan dengan CMC 0,5% menjadi sediaan cair sebanyak 59,5 ml.

Karena sediaan obat yang tersedia berbentuk *soft capsule*, maka pembuatan sediaan dihitung untuk setiap kapsul. Untuk dosis P2, 2 kapsul disuspensikan menjadi sediaan cair sebanyak:

$$\frac{2}{1,73264} \times 59,5 \text{ ml} = 68,68 \text{ ml}$$

### 3.3.2 Perlakuan Stres Panas

Dalam waktu satu hari, mencit diberi perlakuan stres panas selama 30 menit, kemudian diistirahatkan selama 15 menit. Setelah istirahat, mencit kembali diberi perlakuan stres panas selama 30 menit. Perlakuan diberikan selama tiga hari berturut-turut sebelum diberi kombinasi AP dan EP. Suhu yang digunakan dalam perlakuan ini adalah 39-40°C. Mencit dikandangan dalam empat kandang terpisah, masing-masing kandang terdiri dari 17 ekor. Kandang-kandang

tersebut kemudian dimasukkan ke dalam ruangan yang telah diatur suhunya pada suhu 39-40<sup>0</sup>C.

### **3.3.3 Pemberian Kombinasi AP dan EP**

Obat diberikan secara per oral selama 28 hari setelah perlakuan stres panas. Setiap ekor mencit diberikan larutan obat sebanyak 0,5 ml. Hal ini dilakukan mengingat salah satu fungsi imunomodulator adalah untuk meningkatkan kembali sistem kekebalan tubuh setelah terpapar agen yang dapat menurunkannya.

### **3.3.4 Pengambilan Sampel Darah pada Mencit**

Sampel darah diambil dari jantung mencit dengan menggunakan spuit 3 ml. Sampel yang diambil sebanyak kira-kira 1 ml. Darah tersebut kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah diberi antikoagulan EDTA di dalamnya, kemudian digoyang hingga tercampur rata.

### **3.3.5 Pemeriksaan Jumlah dan Jenis Leukosit Mencit**

Pemeriksaan jumlah dan jenis leukosit mencit dilakukan menggunakan sampel darah yang telah diberi antikoagulan EDTA.

#### **1. Pemeriksaan jumlah leukosit**

- Darah diencerkan dengan pelarut Turk dengan menggunakan pipet leukosit.
- Darah yang telah diencerkan diisikan ke kamar penghitung "improved Neubauer"

- Penghitungan jumlah leukosit dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100X.

## 2. Pemeriksaan jenis leukosit

- Darah yang telah diberi EDTA dibuat preparat hapusan darah.
- Preparat hapusan darah diwarnai dengan menggunakan pewarna Wright.
- Pemeriksaan jenis leukosit dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000X, dengan diberi sedikit minyak emersi pada gelas objek.

### 3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), dengan kondisi lingkungan, bahan, dan media relatif seragam, dengan perbedaan terletak pada perlakuan.

### 3.5 Variabel Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa variabel, antara lain:

1. Variabel bebas, yaitu dosis kombinasi *Andrographis paniculata* dan *Echinecea perpurea*, stres panas, serta waktu pemeriksaan leukosit.
2. Variabel tergantung, yaitu jumlah leukosit dan jenis leukosit mencit.
3. Variabel terkontrol, yaitu jenis kelamin mencit, umur, pakan, dan kondisi lingkungan mencit.

### 3.6 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji F menggunakan ANAVA (Analisis Variasi) satu arah dengan tingkat kesalahan 5% untuk menentukan adanya perbedaan pada perlakuan. Apabila telah diketahui terdapat perbedaan maka dilakukan Uji Tukey untuk menentukan perlakuan mana yang paling efektif terhadap hasil penghitungan leukosit mencit.

### 3.7 Skema Penelitian

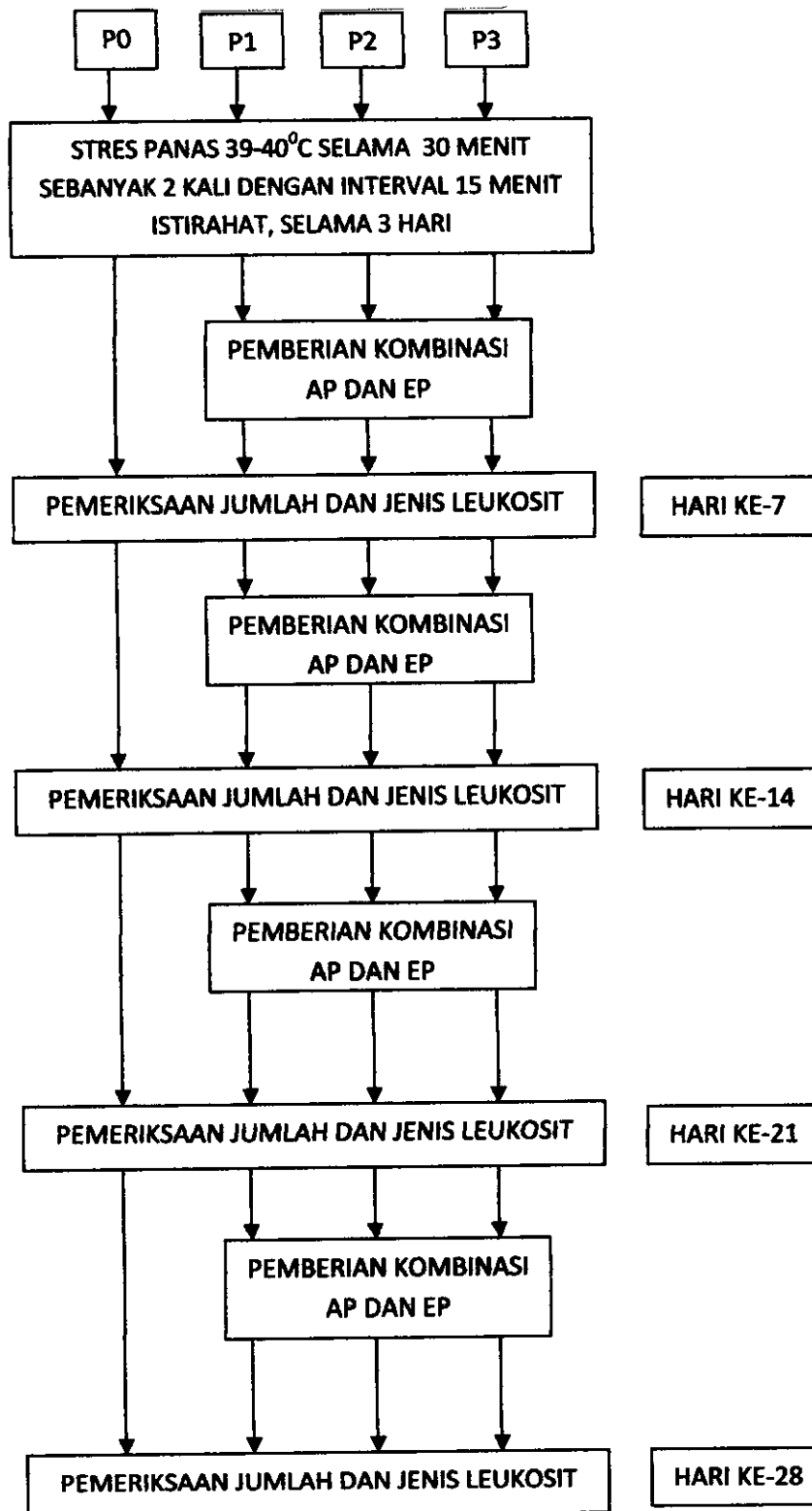
Sebanyak 70 ekor mencit dibagi ke dalam 4 kelompok secara acak, tiap-tiap kelompok terdiri dari 17 ekor. Pembagian kelompok tersebut adalah sebagai berikut:

1. P0. Kelompok ini diberi bahan pelarut seperti yang digunakan dalam suspensi obat selama 28 hari, dan sebelumnya diberi perlakuan stres panas selama 3 hari.
2. P1. Kelompok ini diberi kombinasi AP dan EP dengan dosis 0,00364 kapsul/ekor/hari dalam suspensi CMC 0,5% (dosis pertama) selama 28 hari, dan sebelumnya diberi perlakuan stres panas selama 3 hari.
3. P2. Kelompok ini diberi kombinasi AP dan EP dengan dosis 0,00728 kapsul/ekor/hari dalam suspensi CMC 0,5% (dosis kedua) selama 28 hari, dan sebelumnya diberi perlakuan stres panas selama 3 hari.
4. P3. Kelompok ini diberi kombinasi AP dan EP dengan dosis 0,01456 kapsul/ekor/hari dalam suspensi CMC 0,5% (dosis ketiga) selama 28 hari, dan sebelumnya diberi perlakuan stres panas selama 3 hari.

Pengamatan dilakukan sebanyak empat kali, yaitu hari ke-7, 14, 21, dan 28 setelah dilakukan pemberian imunomodulator. Setiap kali pemeriksaan dilakukan terhadap empat ekor mencit pada masing-masing kelompok perlakuan.



### 3.7.1 Bagan Penelitian



## **BAB 4**

## **HASIL**

## BAB 4 HASIL

Penelitian dilakukan dengan melakukan penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-7, hari ke-14, hari ke-21, dan hari ke-28 yang telah diberi perlakuan yang berbeda (P0, P1, P2, dan P3).

### 4.1. Hasil Penghitungan dan Analisis Data Jumlah dan Jenis Leukosit pada Hari ke-7

Berikut ini merupakan hasil penghitungan serta analisis data jumlah dan jenis leukosit berdasarkan perlakuan (dosis) yang diberikan (K-, P0, P1, P2, dan P3) pada hari ke-7.

#### 4.1.1. Jumlah Leukosit

Rata-rata penghitungan jumlah leukosit pada perlakuan P0 adalah 6750,00. Rata-rata penghitungan jumlah leukosit pada perlakuan P1 adalah sebesar 7025,00; pada perlakuan P2 adalah sebesar 7887,50; dan perlakuan P3 adalah sebesar 7750,00. Hasil ini dapat dilihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah leukosit pada hari ke-7.

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah Leukosit)
P0	6750,00 <sup>b</sup> ± 158,114
P1	7025,00 <sup>ab</sup> ± 225,462
P2	7887,50 <sup>a</sup> ± 886,355
P3	7750,00 <sup>ab</sup> ± 456,435

<sup>a</sup> dan <sup>b</sup> Superskrip dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah leukosit pada hari ke-7 menunjukkan perbedaan nyata, hal ini dibuktikan dengan nilai  $p < 0,05$  ( $p = 0,024$ ). Perbedaan nyata terlihat

pada jumlah leukosit pada perlakuan P0 hanya berbeda nyata dengan P2 ( $p=0,033$ ). Perlakuan P1 tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang lain ( $p>0,05$ ). Perlakuan P2 berbeda nyata dengan perlakuan P0.

#### 4.1.2. Jumlah Eosinofil

Pada perlakuan P0 rata-rata yang diperoleh sebesar 118,00. Rata-rata jumlah eosinofil pada perlakuan P1 adalah 157,50; pada perlakuan P2 sebesar 402,50; sedangkan pada perlakuan P3 sebesar 467,75. Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah eosinofil pada hari ke-7

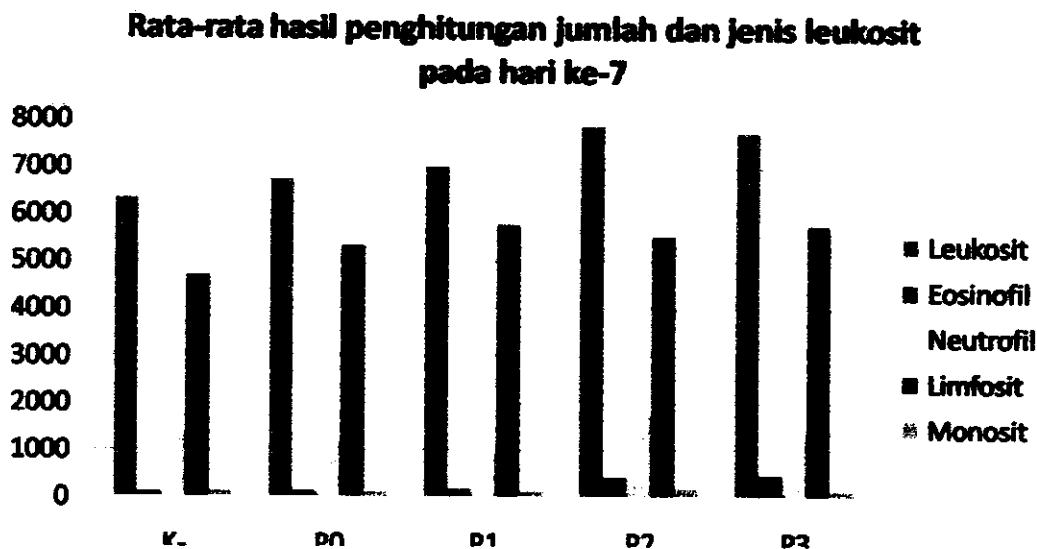
Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah Eosinofil)
P0	118,00 <sup>b</sup> ± 64,798
P1	157,50 <sup>ab</sup> ± 65,139
P2	402,50 <sup>ab</sup> ± 178,644
P3	467,75 <sup>a</sup> ± 246,929

<sup>a</sup> dan <sup>b</sup> Superskrip dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p<0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah eosinofil pada hari ke-7 menunjukkan perbedaan nyata, hal ini ditunjukkan oleh nilai  $p<0,05$  ( $p=0,020$ ). Perbedaan nyata pada jumlah eosinofil terlihat pada perlakuan P0 terhadap P3 ( $p=0,039$ ). Perlakuan P1 dan P2 tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Perlakuan P3 berbeda nyata dengan perlakuan P0.

#### 4.1.3. Jumlah Neutrofil (segmen)

Rata-rata jumlah neutrofil segmen pada perlakuan P0 sebesar 1182,75; pada perlakuan P1 adalah sebesar 969,00; pada perlakuan P2



Gambar 4.1 Grafik rata-rata penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-7

#### 4.2. Hasil Penghitungan dan Analisis Data Jumlah dan Jenis Leukosit pada Hari ke-14

Berikut ini merupakan hasil penghitungan jumlah dan jenis leukosit berdasarkan perlakuan (dosis) yang diberikan (P0, P1, P2, dan P3) pada hari ke-14.

##### 4.2.1 Jumlah Leukosit

Rata-rata penghitungan jumlah leukosit pada perlakuan P0 adalah 7562,50. Rata-rata penghitungan jumlah leukosit pada perlakuan P1 adalah sebesar 9837,50; pada perlakuan P2 adalah sebesar 9787,50; dan perlakuan P3 adalah sebesar 8625,00. Hasil ini dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah leukosit pada hari ke-14.

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah Leukosit)
P0	7562,50 <sup>a</sup> ± 1209,941
P1	9837,50 <sup>a</sup> ± 2236,580
P2	9787,50 <sup>a</sup> ± 1517,330
P3	8625,00 <sup>a</sup> ± 737,677

<sup>a</sup> Superskrip dalam satu kolom tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah leukosit pada hari ke-14 tidak menunjukkan perbedaan nyata, hal ini dibuktikan dengan nilai  $p > 0,05$  ( $p = 0,166$ ).

#### 4.2.2 Jumlah Eosinofil

Pada perlakuan P0 rata-rata yang diperoleh sebesar 168,88. Rata-rata jumlah eosinofil pada perlakuan P1 adalah 187,13; pada perlakuan P2 sebesar 201,63; sedangkan pada perlakuan P3 sebesar 439,00. Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 4.7.

Tabel 4.7 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah eosinofil pada hari ke-14

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah Eosinofil)
P0	168,88 <sup>a</sup> ± 86,893
P1	187,13 <sup>a</sup> ± 124,932
P2	201,63 <sup>a</sup> ± 111,322
P3	439,00 <sup>a</sup> ± 779,454

<sup>a</sup> Superskrip dalam satu kolom tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah eosinofil pada hari ke-14 tidak menunjukkan perbedaan nyata, dibuktikan dengan nilai  $p > 0,05$  ( $p = 0,633$ ).

### 4.2.3 Jumlah Neutrofil (segmen)

Rata-rata jumlah neutrofil segmen pada perlakuan P0 sebesar 1210,13; pada perlakuan P1 adalah sebesar 1714,38; pada perlakuan P2 adalah 1517,38; dan pada perlakuan P3 adalah sebesar 1043,00. Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 4.8.

Tabel 4.8 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah neutrofil (segmen) pada hari ke-14

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah neutrofil segmen)
P0	1210,13 <sup>a</sup> ± 236,797
P1	1714,38 <sup>a</sup> ± 894,954
P2	1517,38 <sup>a</sup> ± 620,747
P3	1043,00 <sup>a</sup> ± 206,369

<sup>a</sup> Superskrip dalam satu kolom tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah segmen neutrofil pada hari ke-14 tidak menunjukkan perbedaan nyata, hal ini ditunjukkan dengan nilai  $p > 0,05$  ( $p = 0,375$ ).

### 4.2.4 Jumlah Limfosit

Rata-rata penghitungan jumlah limfosit pada perlakuan P0 adalah sebesar 6055,25. Pada perlakuan P1 adalah sebesar 7697,38; pada perlakuan P2 adalah sebesar 7919,63; dan perlakuan P3 adalah sebesar 6917,75. Hasil ini dapat dilihat pada tabel 4.9.

Tabel 4.9 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah limfosit pada hari ke-14

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah limfosit)
P0	6055,25 <sup>a</sup> ± 1199,489
P1	7697,38 <sup>a</sup> ± 1410,900
P2	7919,63 <sup>a</sup> ± 994,743
P3	6917,75 <sup>a</sup> ± 1246,523

<sup>a</sup> Superskrip dalam satu kolom tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah limfosit pada hari ke-14 tidak menunjukkan perbedaan nyata. Hal ini dibuktikan dengan nilai  $p > 0,05$  ( $p = 0,181$ ).

#### 4.2.5 Jumlah Monosit

Pada perlakuan P0 rata-rata yang diperoleh sebesar 128,25. Rata-rata pada perlakuan P1 adalah 238,63; pada perlakuan P2 sebesar 148,88; sedangkan pada perlakuan P3 sebesar 171,25. Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 4.10 berikut.

Tabel 4.10 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah monosit pada hari ke-14

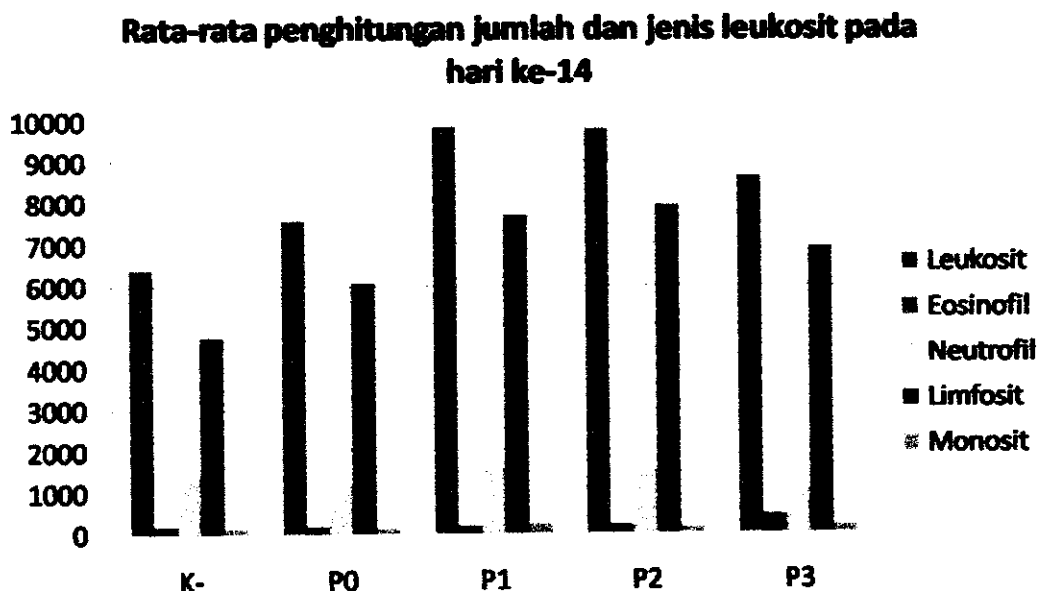
Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah monosit)
P0	128,25 <sup>a</sup> ± 61,591
P1	238,63 <sup>a</sup> ± 181,279
P2	148,88 <sup>a</sup> ± 69,798
P3	171,25 <sup>a</sup> ± 63,943

<sup>a</sup> Superskrip dalam satu kolom tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah monosit pada hari ke-14 tidak menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan, hal ini ditunjukkan dengan nilai  $p > 0,05$  ( $p = 0,515$ ).



Berdasarkan tabel 4.6 hingga tabel 4.10 dapat dibuat grafik pada gambar 4.2 berikut.



Gambar 4.2 Grafik rata-rata penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-14

### 4.3. Hasil Penghitungan dan Analisis Data Jumlah dan Jenis Leukosit pada Hari ke-21

Berikut ini merupakan hasil penghitungan jumlah dan jenis leukosit berdasarkan perlakuan (dosis) yang diberikan (P0, P1, P2, dan P3) pada hari ke-21.

#### 4.3.1 Jumlah Leukosit

Rata-rata penghitungan jumlah leukosit pada perlakuan P0 adalah 7225,00. Rata-rata penghitungan jumlah leukosit pada perlakuan P1 adalah sebesar 5850,00; pada perlakuan P2 adalah sebesar 5200,00; dan perlakuan P3 adalah sebesar 4450,00. Hasil ini dapat dilihat pada tabel 4.11.

Tabel 4.11 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah leukosit pada hari ke-21.

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah Leukosit)
P0	7225,00 <sup>a</sup> ± 1231,868
P1	5850,00 <sup>ab</sup> ± 1252,331
P2	5200,00 <sup>ab</sup> ± 1123,239
P3	4450,00 <sup>b</sup> ± 794,775

<sup>a dan b</sup> Superskrip dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah leukosit pada hari ke-21 menunjukkan perbedaan nyata, hal ini dibuktikan dengan nilai  $p < 0,05$  ( $p = 0,025$ ). Perbedaan hanya nyata terlihat pada jumlah leukosit pada perlakuan P0 terhadap P3 ( $p = 0,019$ ). Perlakuan P1 dan P2 tidak menunjukkan perbedaan nyata dengan perlakuan yang lain. Perlakuan P3 hanya berbeda nyata dengan perlakuan P0.

#### 4.3.2 Jumlah Eosinofil

Pada perlakuan P0 rata-rata yang diperoleh sebesar 357,00. Rata-rata jumlah eosinofil pada perlakuan P1 adalah 289,00; pada perlakuan P2 sebesar 276,63; sedangkan pada perlakuan P3 sebesar 85,50. Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 4.12.

Tabel 4.12 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah eosinofil pada hari ke-21

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah Eosinofil)
P0	357,00 <sup>a</sup> ± 270,639
P1	289,00 <sup>a</sup> ± 200,845
P2	276,63 <sup>a</sup> ± 174,727
P3	85,50 <sup>a</sup> ± 47,573

<sup>a</sup> Superskrip dalam satu kolom tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah eosinofil pada hari ke-21 tidak menunjukkan perbedaan nyata, dibuktikan dengan nilai  $p > 0,05$  ( $p = 0,269$ ).

#### 4.3.3 Jumlah Neutrofil (segmen)

Rata-rata jumlah neutrofil segmen pada perlakuan P0 sebesar 1315,50; pada perlakuan P1 adalah sebesar 822,50; pada perlakuan P2 adalah 922,00; dan pada perlakuan P3 adalah sebesar 692,88. Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 4.13.

Tabel 4.13 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah neutrofil (segmen) pada hari ke-21

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah neutrofil segmen)
P0	1315,50 <sup>a</sup> ± 215,929
P1	822,50 <sup>ab</sup> ± 377,441
P2	922,00 <sup>ab</sup> ± 366,291
P3	692,88 <sup>b</sup> ± 165,551

<sup>a</sup> dan <sup>b</sup> Superskrip dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah segmen neutrofil pada hari ke-21 menunjukkan perbedaan nyata, hal ini ditunjukkan dengan nilai  $p < 0,05$  ( $p = 0,058$ ). Perbedaan nyata ditunjukkan oleh perlakuan P0 terhadap perlakuan P3 ( $p = 0,050$ ). Perlakuan P1 dan P2 tidak berbeda dengan perlakuan yang lain.

#### 4.3.4 Jumlah Limfosit

Rata-rata penghitungan jumlah limfosit pada perlakuan P0 adalah sebesar 5430,63. Pada perlakuan P1 adalah sebesar 4629,63; pada

perlakuan P2 adalah sebesar 3906,75; dan perlakuan P3 adalah sebesar 3583,50. Hasil ini dapat dilihat pada tabel 4.14.

Tabel 4.14 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah limfosit pada hari ke-21

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah limfosit)
P0	5430,63 <sup>a</sup> ± 884,068
P1	4629,63 <sup>ab</sup> ± 763,579
P2	3906,75 <sup>ab</sup> ± 900,627
P3	3583,50 <sup>b</sup> ± 653,105

<sup>a dan b</sup> Superskrip dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah limfosit pada hari ke-21 menunjukkan perbedaan nyata. Hal ini dibuktikan dengan nilai  $p < 0,05$  ( $p = 0,031$ ). Perlakuan P0 hanya berbeda dengan perlakuan P3 ( $p = 0,031$ ). Perlakuan P1 dan P2 tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Sedangkan perlakuan P3 hanya berbeda nyata dengan perlakuan P0.

#### 4.3.5 Jumlah Monosit

Pada perlakuan P0 rata-rata yang diperoleh sebesar 121,88. Rata-rata pada perlakuan P1 adalah 108,88; pada perlakuan P2 sebesar 94,63; sedangkan pada perlakuan P3 sebesar 88,13. Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 4.15 berikut.

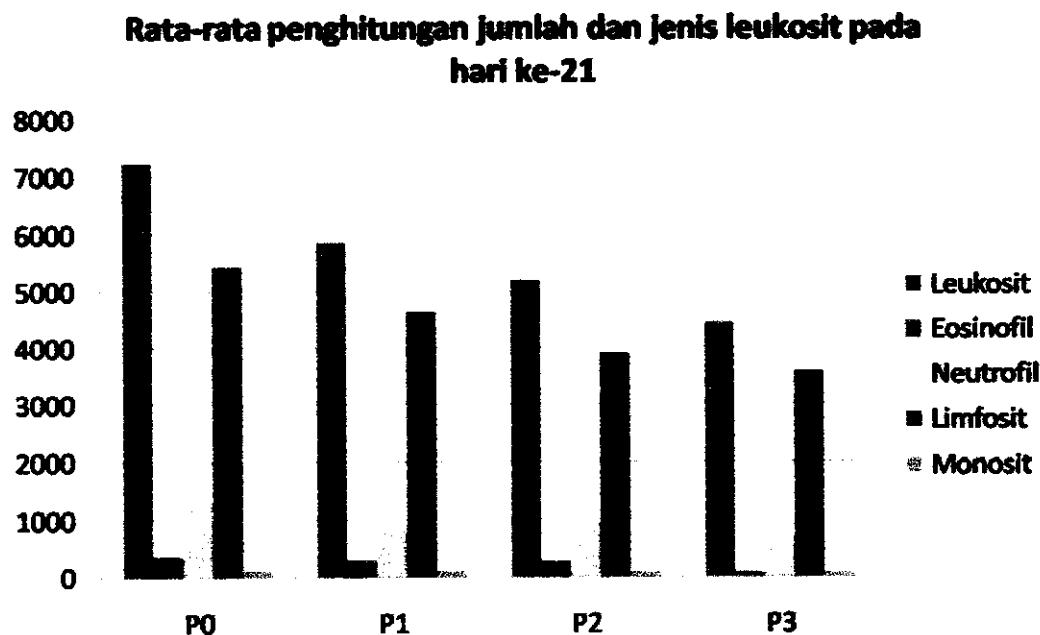
Tabel 4.15 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah monosit pada hari ke-21

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah monosit)
P0	121,88 <sup>a</sup> ± 21,269
P1	108,88 <sup>a</sup> ± 73,483
P2	94,63 <sup>a</sup> ± 39,765
P3	88,13 <sup>a</sup> ± 38,842

<sup>a</sup> Superskrip dalam satu kolom tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p>0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah monosit pada hari ke-21 tidak menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan, hal ini ditunjukkan dengan nilai  $p>0,05$  ( $p=0,751$ ).

Berdasarkan tabel 4.11 hingga tabel 4.15 dapat dibuat grafik pada gambar 4.3 berikut.



Gambar 4.3 Grafik rata-rata penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-21

#### 4.4. Hasil Penghitungan dan Analisis Data Jumlah dan Jenis Leukosit pada Hari ke-28

Berikut ini merupakan hasil penghitungan jumlah dan jenis leukosit berdasarkan perlakuan (dosis) yang diberikan (P0, P1, P2, dan P3) pada hari ke-28.

#### 4.4.1 Jumlah Leukosit

Rata-rata penghitungan jumlah leukosit pada perlakuan P0 adalah 6987,50. Rata-rata penghitungan jumlah leukosit pada perlakuan P1 adalah sebesar 6175,00; pada perlakuan P2 adalah sebesar 6412,50; dan perlakuan P3 adalah sebesar 6837,50. Hasil ini dapat dilihat pada tabel 4.16 berikut.

Tabel 4.16 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah leukosit pada hari ke-28

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah Leukosit)
P0	6987,50 <sup>a</sup> ± 926,800
P1	6175,00 <sup>a</sup> ± 1798,379
P2	6412,50 <sup>a</sup> ± 1984,681
P3	6837,50 <sup>a</sup> ± 335,099

<sup>a</sup> Superskrip dalam satu kolom tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah leukosit pada hari ke-28 tidak menunjukkan perbedaan nyata, hal ini dibuktikan dengan nilai  $p > 0,05$  ( $p = 0,841$ ).

#### 4.4.2 Jumlah Eosinofil

Pada perlakuan P0 rata-rata yang diperoleh sebesar 321,13. Rata-rata jumlah eosinofil pada perlakuan P1 adalah 298,00; pada perlakuan P2 sebesar 284,00; sedangkan pada perlakuan P3 sebesar 208,13. Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 4.17.

Tabel 4.17 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah eosinofil pada hari ke-28

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah Eosinofil)
P0	321,13 <sup>a</sup> ± 192,824
P1	321,13 <sup>a</sup> ± 215,404
P2	284,00 <sup>a</sup> ± 235,383
P3	208,13 <sup>a</sup> ± 107,530

<sup>a</sup> Superskrip dalam satu kolom tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah eosinofil pada hari ke-28 tidak menunjukkan perbedaan nyata, dibuktikan dengan nilai  $p > 0,05$  ( $p = 0,857$ ).

#### 4.4.3 Jumlah Neutrofil (segmen)

Rata-rata jumlah neutrofil segmen pada perlakuan P0 sebesar 1528,75; pada perlakuan P1 adalah sebesar 915,50; pada perlakuan P2 adalah 1173,63; dan pada perlakuan P3 adalah sebesar 672,13. Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 4.18.

Tabel 4.18 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah neutrofil (segmen) pada hari ke-28

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah neutrofil segmen)
P0	1528,75 <sup>a</sup> ± 454,628
P1	915,50 <sup>a</sup> ± 300,580
P2	1173,63 <sup>a</sup> ± 1011,992
P3	672,13 <sup>a</sup> ± 181,839

<sup>a</sup> Superskrip dalam satu kolom tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah segmen neutrofil pada hari ke-28 tidak menunjukkan perbedaan nyata, hal ini ditunjukkan dengan nilai  $p > 0,05$  ( $p = 0,244$ ).

#### 4.4.4 Jumlah Limfosit

Rata-rata penghitungan jumlah limfosit pada perlakuan P0 adalah sebesar 5018,13. Pada perlakuan P1 adalah sebesar 4816,25; pada perlakuan P2 adalah sebesar 4864,25; dan perlakuan P3 adalah sebesar 5805,50. Hasil ini dapat dilihat pada tabel 4.19 berikut.

Tabel 4.19 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah limfosit pada hari ke-28

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah limfosit)
P0	5018,13 <sup>a</sup> ± 921,236
P1	4816,25 <sup>a</sup> ± 1695,466
P2	4864,25 <sup>a</sup> ± 1086,389
P3	5805,50 <sup>a</sup> ± 119,257

<sup>a</sup> Superskrip dalam satu kolom tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah limfosit pada hari ke-28 tidak menunjukkan perbedaan nyata. Hal ini dibuktikan dengan nilai  $p > 0,05$  ( $p = 0,574$ ).

#### 4.4.5 Jumlah Monosit

Pada perlakuan P0 rata-rata jumlah monosit yang diperoleh sebesar 119,50. Rata-rata pada perlakuan P1 adalah 145,25; pada perlakuan P2 sebesar 90,63; sedangkan pada perlakuan P3 sebesar 151,75. Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 4.20 berikut.



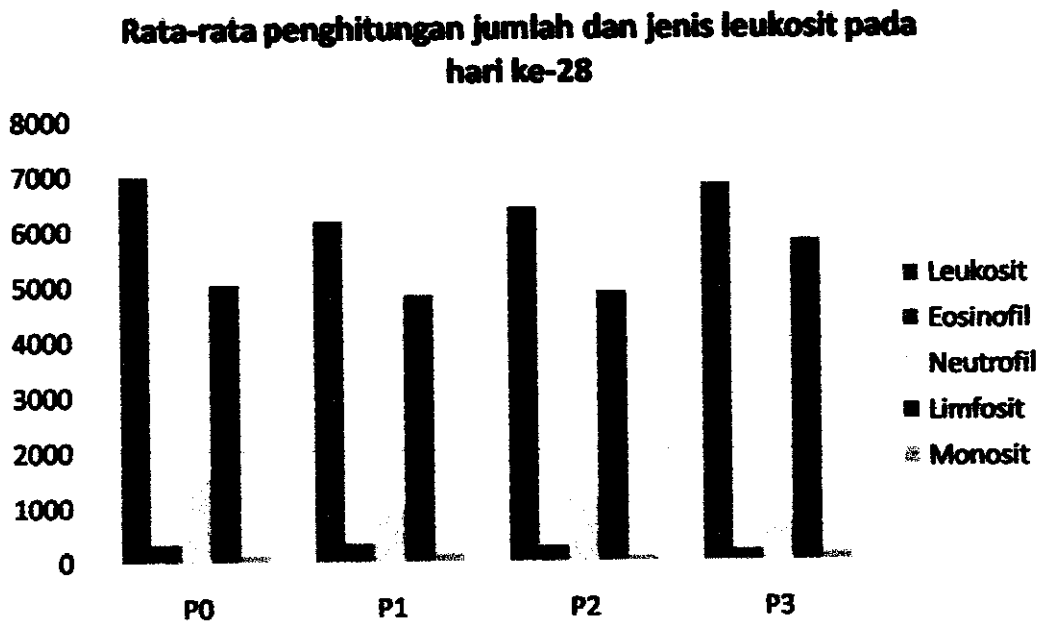
Tabel 4.20 Rata-rata dan simpangan baku perlakuan terhadap jumlah monosit pada hari ke-28

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku (Jumlah monosit)
P0	119,50 <sup>a</sup> ± 27,970
P1	145,25 <sup>a</sup> ± 90,000
P2	90,63 <sup>a</sup> ± 82,645
P3	151,75 <sup>a</sup> ± 60,202

<sup>a</sup> Superskrip dalam satu kolom tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ )

Hasil uji menggunakan ANAVA pada perlakuan terhadap jumlah monosit pada hari ke-28 tidak menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan, hal ini ditunjukkan dengan nilai  $p > 0,05$  ( $p = 0,603$ ).

Berdasarkan tabel 4.16 hingga tabel 4.20 dapat dibuat grafik seperti pada gambar 4.4 berikut.



Gambar 4.4 Grafik rata-rata penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-28

## **BAB 5**

# **PEMBAHASAN**

## BAB 5 PEMBAHASAN

### 5.1 Jumlah Leukosit

Stres panas dapat menyebabkan penurunan jumlah leukosit dalam darah (Settivari, 2007). Hal ini dipengaruhi oleh glukokortikoid yang dilepaskan oleh korteks adrenal saat terjadi paparan stres (Salak-Johnson dan McGlone, 2006). Namun hasil yang didapatkan pada penghitungan jumlah leukosit mencit pada pemeriksaan awal serta hari ke-7 menunjukkan peningkatan jumlah leukosit pada kelompok yang diberi perlakuan stres panas dibandingkan pada kelompok yang tidak diberi stres panas. Hasil yang berbeda ini dijelaskan oleh Dhabhar (2006) sebagai perubahan bifasik dalam jumlah leukosit dalam darah, karena stres dapat memicu pelepasan katekolamin dan glukokortikoid. Kedua hormon tersebut merupakan mediator utama dalam perubahan distribusi leukosit dalam darah yang diakibatkan stres.

Pada awal stres, respon yang terjadi adalah pelepasan hormon katekolamin. Katekolamin telah diketahui mampu meningkatkan jumlah leukosit dalam darah pada tikus dan manusia (Dhabhar, 2006). Peningkatan ini dikarenakan keluarnya leukosit dari organ-organ penyimpanannya (limpa, paru-paru, dan organ lain) menuju peredaran darah, sehingga pada pemeriksaan jumlah leukosit terjadi peningkatan. Hal ini didukung pernyataan Bouchama dan Knochel (2002), stres panas dapat menimbulkan peningkatan leukosit dalam sistem endotel.

Namun saat respon stres berlanjut, terjadi pengaktifan aksis HPA sehingga terjadi pelepasan hormon glukokortikoid yang berakibat pada distribusi leukosit dari pembuluh darah menuju organ-organ seperti kulit, lapisan mukosa saluran pencernaan dan perkemihan, hepar, serta limfonodus (Dhabhar, 2006). Hal ini menyebabkan terjadinya penurunan dalam penghitungan jumlah leukosit dalam darah. McEwen (1998) menyatakan bahwa apabila bahaya pada sistem kekebalan tidak terjadi dan hormon mediator pada stres telah kembali normal, maka sel-sel yang berperan dalam sistem kekebalan tersebut akan kembali didistribusikan ke peredaran darah.

Efek stres panas yang diberikan pada penelitian ini tidak berlangsung terus menerus, karena tubuh mampu mengembalikan sistem kekebalan ke arah normal. Artinya, homeostasis berhasil dilakukan. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya perbedaan nyata pada hari ke-28 perlakuan.

## 5.2 Jumlah Eosinofil

Jumlah eosinofil pada hari ke-7 pada perlakuan P3 meningkat dibandingkan perlakuan yang lain. Menurut Schalm (1975) eosinopenia (penurunan jumlah eosinofil) pada stres fisik dan emosional berhubungan dengan peningkatan kadar adrenocorticosteroid dan katekolamin. Dapat diasumsikan bahwa pemberian kombinasi *Andrographis paniculata* dan *Echianacea purpurea* memberikan efek imunomodulator terhadap jumlah eosinofil pada mencit, sehingga pada perlakuan P3 terjadi peningkatan. Namun efek stres panas pada jumlah eosinofil tidak terlihat lagi pada hari ke-

14, ke-21, dan ke-28. Hal ini ditunjukkan oleh tidak adanya perbedaan nyata pada jumlah eosinofil pada pemeriksaan tersebut.

### 5.3 Jumlah Neutrofil

Kerr (2002), Dhabhar (2002), serta Davis (2008), menyatakan bahwa stres dapat memicu neutrofilia, yaitu peningkatan jumlah neutrofil. Namun Davis (2008) juga menyatakan bahwa pada kuda, jumlah neutrofil meningkat selama terpapar latihan, dan menurun secara berkala setelah paparan dihentikan. Hal yang sama juga disampaikan Morrow-Tesch *et al.* (1994), yang menyatakan bahwa neutrofil dilepaskan ke sirkulasi darah tepi selama stres berlangsung. Pernyataan-pernyataan tersebut menjelaskan hasil yang diperoleh, yaitu tidak adanya perbedaan nyata pada jumlah neutrofil antar perlakuan, karena pada saat pengambilan darah dilakukan, jumlah neutrofil dalam darah telah mencapai angka normal. Namun pada hari ke-21 terjadi peningkatan jumlah neutrofil pada perlakuan P0. Hal ini mungkin dikarenakan kelompok P0 mengalami stres.

### 5.4 Jumlah Limfosit

Pada hari ke-7 rata-rata jumlah limfosit tidak menunjukkan perbedaan antar perlakuan. Dhabhar (2002) menyatakan bahwa jumlah limfosit yang menurun selama stres akan kembali normal seperti jumlah limfosit pra-stres dalam 3 jam setelah stres. Dalam *review* lainnya, Davis (2008) juga menjelaskan bahwa jumlah limfosit tetap berada di bawah normal saat

paparan latihan berlangsung, namun kembali ke batas normal setelah 14 jam latihan dihentikan. Hal ini mendukung hasil pada penghitungan limfosit pada hari ke-7, dimana tidak ada perbedaan nyata pada masing-masing perlakuan.

Pada hari ke-21, rata-rata tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan P0 yang berbeda nyata dengan perlakuan P3. Perbedaan ini terjadi karena pada perlakuan P3 terjadi penurunan jumlah limfosit yang cukup tajam. Penurunan jumlah limfosit dapat disebabkan oleh stres (fisik atau neurogenis) maupun peradangan akut karena bakteri atau virus (Brooks, 2010). Namun berdasarkan Kerr (2002), penurunan jumlah limfosit yang abnormal pada hewan monogastrik adalah dibawah  $1 \times 10^9/l$ . Penurunan yang ditunjukkan oleh perlakuan tersebut masih dalam batas normal jumlah limfosit mencit.

Pada hari ke-28 tidak terlihat perbedaan antar perlakuan. Dapat diasumsikan bahwa sistem kekebalan mencit telah kembali ke normal. Mencit mampu mengadakan adaptasi dan berhasil mengembalikan kondisi tubuhnya.

### **5.5 Jumlah Monosit**

Penghitungan monosit pada hari ke-7 hingga hari ke-28 tidak menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan. Sampai saat ini, belum terdapat sumber yang menjelaskan pengaruh stres panas terhadap jumlah monosit. Schalm (1975) menyatakan bahwa monositopenia (penurunan jumlah monosit) pada mencit yang diinjeksi glukokortikoid sebagian besar dikarenakan gangguan pelepasan monosit yang baru dibentuk. Schalm (1975) dan Kerr (2002) menyatakan bahwa pada beberapa spesies hewan (sapi,

kucing, kuda) monositopenia dapat terlihat pada fase awal stres, namun setelah fase akut terlewati, dapat terjadi monositosis.

Perbedaan hasil pada penelitian ini terhadap penelitian-penelitian sebelumnya dapat disebabkan beberapa faktor. Salak-Johnson dan McGlone (2006) menyatakan bahwa beberapa faktor lain yang mempengaruhi stres dan sistem kekebalan pada hewan adalah tipe stres (psikologis, fisiologis, atau fisik), durasi stres (akut atau kronis), faktor genetik hewan, usia, dan status sosial. Faktor-faktor tersebut dapat menjelaskan terjadinya perbedaan hasil yang diperoleh pada berbagai penelitian mengenai stres dan sistem kekebalan. Faktor lain yang dapat berpengaruh adalah waktu pengambilan sampel, aktivasi katekolamin atau glukokortikoid, status kesehatan hewan, serta paparan terhadap patogen.

Pemberian kombinasi *Andrographis paniculata* dan *Echinacea purpurea* menunjukkan perbedaan nyata terhadap jumlah leukosit mencit, namun masih dalam batas normal. Hal ini ditunjukkan oleh nilai  $p < 0,05$  pada hari ke-7 dan hari ke-21. Perlakuan juga menunjukkan perbedaan nyata pada jumlah eosinofil pada hari ke-7, jumlah neutrofil segmen pada hari ke-21, dan jumlah limfosit pada hari ke-21. Akan tetapi tiap perlakuan masih di dalam batas normal penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit.

Berdasarkan pembahasan tersebut, pemberian kombinasi *Andrographis paniculata* dan *Echinacea purpurea* sebagai imunomodulator pada mencit yang telah diberi perlakuan stres panas dapat menstabilkan jumlah dan jenis leukosit mencit pada batas-batas normal. Menurut Agrawal dan Singh (1999)

imunomodulator merupakan suatu senyawa yang dapat menstimulus satu dari komponen-komponen sistem imun, baik sistem imun spesifik maupun tidak spesifik.

Peran imunomodulator karena adanya zat aktif andrographolide yang terkandung dalam sambiloto (*Andrographis paniculata*) serta kandungan polisakarida pada *Echinacea purpurea*. Andrographolide, zat aktif yang terkandung dalam *Andrographis paniculata*, diketahui dapat menstimulasi respon imun alami pada mencit, yang diukur berdasarkan indeks migrasi makrofag, fagositosis terhadap *E. coli* yang telah diberi label, dan proliferasi limfosit pada limpa (Xu, 2009). Jarukamjorn (2008) melaporkan bahwa andrographolide sebagai agen imunostimulan dapat mengaktifkan fungsi imun spesifik dan tidak spesifik. Menurut Iruetagoyna *et al.* (2004), senyawa andrographolide dilaporkan efisien dalam mengatur respon imun. Andrographolide dapat mempengaruhi sistem imun pada derajat yang berbeda.

Berdasarkan Spence (2002), polisakarida yang diekstrak dari akar *Echinacea purpurea* dapat mengaktifkan fungsi sekretoris dan sitotoksik dari makrofag manusia dan mencit. Bauer *et al.* (1990) menyatakan bahwa aktifitas *Echinacea purpurea* pada umumnya menstimulasi sistem imun tidak spesifik. Polisakarida yang terkandung dalam *Echinacea purpurea* memiliki aktifitas imunomodulator serta aktifitas yang lain, seperti stimulasi fagosit, induksi sitokin makrofag, dan aktifitas antioksidan. Namun, metode analisis yang spesifik terhadap polisakarida aktif pada *Echinacea purpurea* belum dikembangkan.



Berdasarkan Kim *et al.* (2002) mekanisme peningkatan sistem imun oleh *Echinacea purpurea* dilakukan melalui peningkatan produksi dan aktifitas leukosit, limfosit, monosit, dan sitokin. Dua jenis polisakarida telah diisolasi dari ekstrak aquades dari bagian atas tanaman *E. purpurea* dan telah terbukti mampu menstimulasi fagositosis secara *in vitro* dan *in vivo*. Namun polisakarida akan lebih efektif diberikan secara oral karena polisakarida menjadi tidak stabil dalam bentuk ekstrak.

## **BAB 6**

# **KESIMPULAN DAN SARAN**

## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang didapatkan, maka penelitian dapat memberi kesimpulan bahwa:

1. Pemberian kombinasi sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan *Echinacea purpurea* berperan sebagai imunomodulator pada mencit yang dibuat stres dengan panas, yakni mampu meningkatkan jumlah leukosit pada hari ke-7 dan menurunkan jumlah leukosit pada hari ke-21 tetapi masih dalam batas-batas normal.
2. Pemberian kombinasi sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan *Echinacea purpurea* berperan sebagai imunomodulator pada mencit yang dibuat stres dengan panas memberi pengaruh terhadap peningkatan jumlah eosinofil pada hari ke-7, serta penurunan jumlah neutrofil pada hari ke-21 dan limfosit pada hari ke-21, tetapi masih dalam batas-batas normal. Sementara itu, jumlah monosit tidak mengalami perubahan.

### 6.2 Saran

Saran yang dapat dikemukakan dalam penelitian ini adalah:

1. Kombinasi sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan *Echinacea purpurea* dapat digunakan sebagai imunomodulator untuk mengembalikan sistem kekebalan setelah dipapar dengan stres panas.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek kombinasi *Andrographis paniculata* dan *Echinacea purpurea* terhadap respon imun akibat penyakit infeksi.

# RINGKASAN

## RINGKASAN

Sistem imun atau kekebalan adalah sistem yang berperan penting dalam melindungi tubuh dari berbagai macam agen penyakit yang menyerang tubuh. Salah satu komponen sistem kekebalan adalah sel darah putih. Gangguan terhadap sistem kekebalan dapat menimbulkan masuknya penyakit ke dalam tubuh. Salah satu gangguan terhadap sistem kekebalan adalah stres, misalnya stres panas. Pada keadaan di mana sistem kekebalan terganggu, upaya pengembalian dengan imunomodulator menjadi sangat vital. Sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan *Echinacea purpurea* merupakan contoh tanaman yang memiliki efek imunomodulator.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian kombinasi *Andrographis paniculata* dan *Echinacea purpurea* sebagai imunomodulator terhadap penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit betina sebanyak 70 ekor yang telah diberi stres panas. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah dosis P0 (hanya diberi pelarut obat), P1 (0,00364 kapsul/ekor/hari), P2 (dua kali dosis P1), dan P3 (dua kali dosis P2).

Pemberian kombinasi *Andrographis paniculata* dan *Echinacea purpurea* dilakukan selama 28 hari setelah dilakukan stres panas selama tiga hari. Pemeriksaan jumlah dan jenis leukosit mencit dilakukan setiap minggu sebanyak 4 kali, setiap kali pemeriksaan dilakukan terhadap empat ekor pada masing-masing kelompok perlakuan. Hasil penghitungan jumlah dan jenis leukosit dianalisa menggunakan

program SPSS, dengan menggunakan uji ANAVA kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey (BNJ).

Pemberian kombinasi *Andrographis paniculata* dan *Echinacea purpurea* menunjukkan perbedaan nyata terhadap jumlah leukosit mencit pada hari ke-7 dan hari ke-21 (nilai *p-value* < *p* tabel 5%). Perlakuan juga menunjukkan perbedaan nyata pada jumlah eosinofil pada hari ke-7, jumlah segmen neutrofil dan jumlah limfosit pada hari ke-21. Akan tetapi tiap perlakuan masih di dalam batas normal penghitungan jumlah dan jenis leukosit mencit.

Pemberian kombinasi *Andrographis paniculata* dan *Echinacea purpurea* pada mencit yang telah diberi stres panas dapat meningkatkan maupun menurunkan komponen sistem kekebalan, dalam hal ini adalah leukosit.

# DAFTAR PUSTAKA



**DAFTAR PUSTAKA**

- Abbas, A. K. and A. H. Lichtman. 2003. *Cellular and Molecular Immunology Fifth Edition*. Saunders Elsevier Science. Philadelphia.
- Agrawal, S. S. and V. K. Singh. 1999. *Immunomodulators : A Review of Studies on Indian Medicinal Plants and Synthetic Peptides Part I: Medicinal Plants*. PINSA B65. Nos 3 & 4: 179-204.
- Altan, Ö., A. Altan, M. Çabuk, and H. Bayraktar. 1999. *Effects of Heat Stress on Some Blood parameters in Broilers*. Turk J Vet Anim Sci. 24 (2000): 145-148.
- Awang, Dennis V.C. 1999. *Immune Stimulants and Antiviral Botanicals: Echinacea and Ginseng. Perspectives on new crops and new uses*. Alexandria. ASHS Press.
- Bauer, R., M. Netshc, and M. H. Kreuter. 1990. *Echinacea purpurea. Echinacea Handbuch fur Aerzte, Apotheker und Andere Naturwissenschaftler*.
- Bouchama A. and Knochel J.P. 2002. *Heat Stroke*. N Engl J Med. 346 (25): 1978-1988.
- Brooks, H. W. 2010. *Pathology of Veterinary Nurses*. Wiley-Blackwell. Oxford.
- Davis, A. K., D. L. Maney, and J. C. Maerz. 2008. *The Use of Leukocyte Profiles to Measure Stress in Vertebrates: A Review for Ecologist*. Functional Ecology. 22: 760-772.
- Desai, A., A. Grolleau-Julius, and R. Yung. 2010. *Leukocyte Function in the Aging Immune System [Review]*. Journal of Leukocyte Biology. 87:1-8.
- Dhabhar, F. S. 2002. *A Hassle a Day May Keep the Doctor Away: Stress and the Augmentation of Immune Function*. Integ. And Comp. Biol. 42:556-564.
- Dhabhar, F. S. 2006. *Stress-induced Changes in Immune Cell Distribution and Trafficking: Implication for Immunoprotection versus Immunopathology*. In: C. J. Welsh, M. W. Meagher, and E. M. Sternberg (Ed.). *Neural and Neuroendocrine Mechanism in Host Defense and Autoimmunity*. Springer Science+Business Media. New York.

- Flagel, L. E., R. A. Rapp, C. E. Grover, M. P. Widrlechner, J. Hawkins, J. L. Gravenberg, I. Álvarez, G. Y. Chung, and J. F. Wendel. 2008. Phylogenetic, Morphological, and Chemotaxonomic Incongruence in the North American Endemic Genus *Echinacea*. *American Journal of Botany*. 95 (6): 756-765.
- Folds, J. D. 2008. Overview of Immunology. In: M. R. G. O'Gorman and A. D. Donnenberg (Ed.). *Handbook of Human Immunology 2nd Edition*. CRC Press. Boca Raton. London. New York.
- Iruretagoyena, M. I., J. A. Tobar, P. A. González, S. E. Sepúlveda, C. A. Figueroa, R. A. Burgos, J. L. Hancke, and A. M. Kalergis. 2004. Andrographolide Interferes with T Cell Activation and Reduces Experimental Autoimmune Encephalomyelitis in the Mouse. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2005. 312(1): 366-372.
- ITIS Taxonomy. Diupdate pada 9 Agustus 2010. *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. Ex Nees. <http://www.itis.gov/>. [10 Agustus 2010]
- ITIS Taxonomy. Diupdate pada 9 Agustus 2010. *Echianacea purpurea* (L.) Moench. <http://www.itis.gov/>. [10 Agustus 2010]
- Jarukamjorn, K. and N. Nemoto. 2008. Pharmacological Aspects of *Andrographis paniculata* on Health and Its Major Diterpenoid Constituent Andrographolide. *Journal of Health Science*. 54(4): 370-381.
- Kerr, M. G. 2002. *Veterinary Laboratory Medicine Clinical Biochemistry and Haematology Second Edition*. Blackwell Science. Oxford.
- Kim, L.S., R. F. Waters, and P. M. Burkholder. 2002. Immunological Activity of Larch Arabinogalactan and *Echinacea*: A Preliminary, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial. *Alternative Medicine Review* Vol. 7 (2): 138-149.
- Kusmardi, S. Kumala, dan E. E. Triana. 2007. Efek Imunomodulator Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) terhadap Aktivitas dan Kapasitas Magositosis Makrofag. *Makara, Kesehatan*, Vol. 11 (2): 50-53.
- Lee, T., C. Huang, X. Shieh, C. Chen, L. Chen, and B. Yu. 2010. Flavanoid, Phenol, and Polysaccharide Contents of *Echinacea purpurea* L. and Its Immunostimulant Capacity In Vitro. *International Journal of Environmental Science and Development*. 1 (1):5-9.

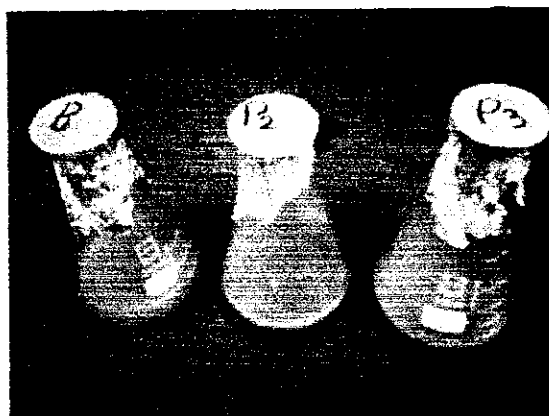
- Marrow-Tesch, J. L., J. J. McGlone, and J. L. Salak-Johnson. 1994. Heat and Social Stress Effects on Pig Immune measures. *J. Anim. Sci.* 1994 (72):2599-2609.
- McEwen, B. S. 1998. Protective and Damaging Effects of Stress mediators [review Article]. *Massachusetts Medical Society.* 338 (3):171-179.
- Niranjan, A., S.K. Tewari, and A. Lehri. 2010. Biological Activity of *Kalmegh* (*Andrographis paniculata* Ness) and Its Active Principles-A Review. *Indian Journal of Natural Products and Resources.* Vol 1 (2): 125-135.
- Paul, W. E. 2008. The Immune System. In: W. E. Paul (Ed.). *Fundamental Immunology* 6th Edition. Lippincott Williams & Wilkins.
- Pinchuk, G. 2002. *Theory and Problems of Immunology.* McGRAW-HILL. New York. Chicago. San Fransisco. Lisbon. London. Madrid. Mexico City. Milan. New Delhi. San Juan. Seoul. Singapore. Sydney. Toronto.
- Provan, D., C. R. J. Singer, T. Baglin, and J. Lilleyman. 2004. *Oxford Handbook of Clinical Haematology* Second Edition. Oxford University Press. New York.
- Pujiasmanto, B., J. Moenandir, Syamsulbahri, dan Kuswanto. 2007. *Kajian Agroekologi dan Morfologi Sambiloto (Andrographis paniculata Ness.) pada Berbagai Habitat.* *Biodiversitas* Vol 8 (4): 326-329.
- Räberg, L., M. Grahn, D. Hasselquist, and E. Svenson. 1998. On the Adaptive Significance of Stress-Induced Immunosuppression. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 265: 1637-1641.
- Salak-Johnson J. L. and J. J. McGlone. 2006. *Stress and Immunity. Making Sense of Apparently Conficting Data in the Literature about Stress and Immunity: Aspects of the Immune System respond Differently to Stress [Review].* University of Illinois.
- Schalm, O. W., N. C. Jain, E. J. Carroll. 1975. *Veterinary Hematology* 3rd edition. Lea & Febiger. Philadelphia.
- Selkirk, G. A., T. M. McLellan, H. E. Wright, and S. G. Rhind. 2009. Expression of Intreccellular Cytokines, HSP72, and Apoptosis in Monocyte Subsets During Heat Stress and Untrained Individuals. *Am J Physiol Regul Comp Physiol.* 296: R575-R586.
- Settivari R.S. 2007. *Temporal Effects of Fescue Toxicosis and heat Stress on Rat Physiology and Hepatic Gene Expression [Dissertation Doctor].* The University of Missouri, Columbia.

- Spence, K.M. 2002. In Vivo Evaluation of Immunomodulatory Properties of Crude Extracts of Echinacea Species and Fractions Isolated from *Echinacea purpurea* [M.Sc. Thesis]. University of Southern Queensland.
- The United States of department of Agriculture. 2001. Echinacea. Fact sheets on Non-Timber Forest Product. Department of Wood Science and Forest Products. Virginia.
- USDA Plant Profiles. *Echinacea purpurea* (L.) Moench Eastern Purple Coneflower. <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=ECPU>. [10 Agustus 2010]
- Vora, A. C. 2007. Role of Immunomodulators in the Management of MDR-TB. The Association of Physicians of India. Medicine Updates. India. pp. 775-778.
- Xu, Youhong. 2009. Adaptive Immune Response-modifying and Antimicrobial Properties of *Andrographis paniculata* and Andrographolide [Dissertation Doktor]. The University of Queensland.

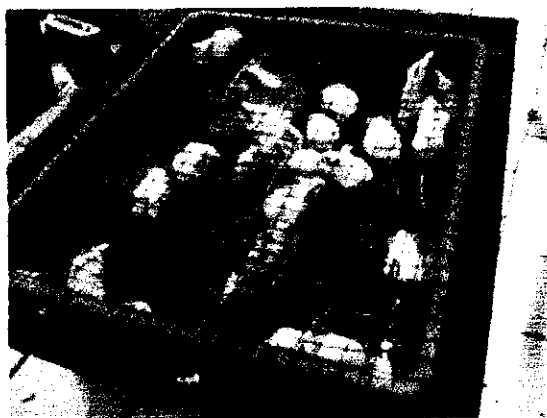
# LAMPIRAN

**Lampiran 1. Konversi dosis hewan dengan manusia**

	<b>Mencit 20 g</b>	<b>Tikus 200 g</b>	<b>Kelinci 1,5 Kg</b>	<b>Kucing 2 Kg</b>
<b>Manusia 70 Kg</b>	0,0026	0,018	0,07	0,076

**Lampiran 2. Gambar bahan dan alat penelitian**

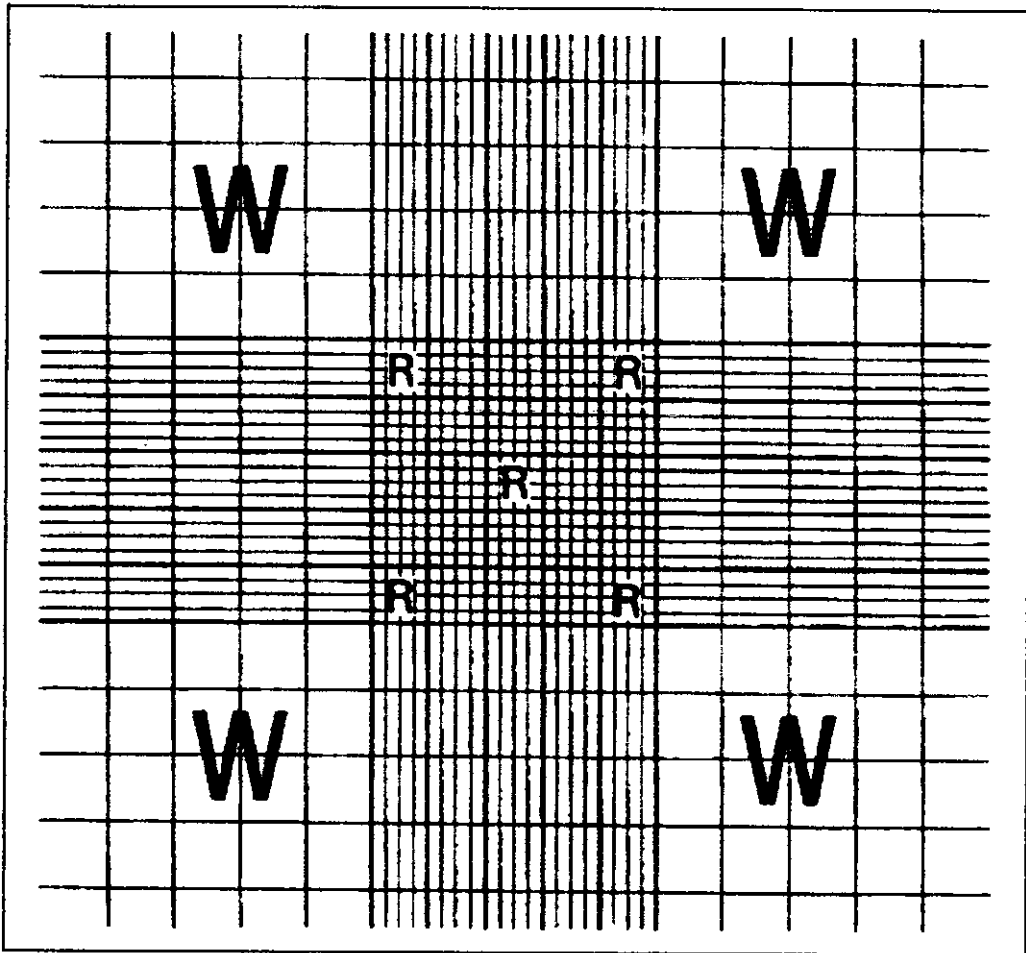
**Gambar 1. Sediaan Kombinasi AP dan EP (P1, P2, P3)**



**Gambar 2. Mencit dan kandangnya**

**Lampiran 3. Prosedur penelitian****Gambar 1. Perlakuan stres panas****Gambar 2. Pemberian kombinasi AP dan EP pada mencit****Gambar 3. Pengambilan darah pada mencit**



**Lampiran 4. Kamar penghitung leukosit “Improved Neubauer”**

(Sumber: Kerr, 2002)

**Lampiran 5. Tabel hasil penghitungan Jumlah dan jenis leukosit mencit**

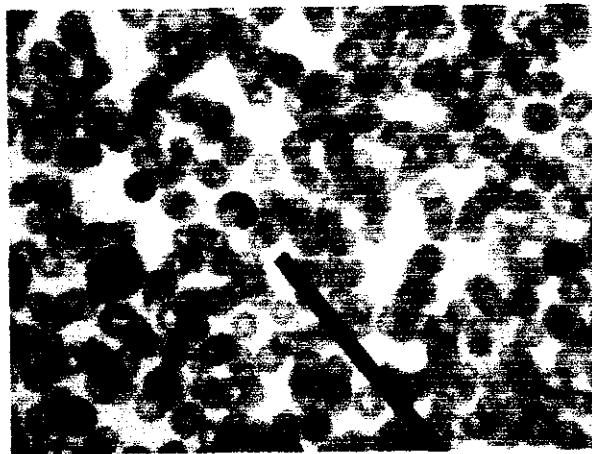
Hari ke-	Perlakuan	Jumlah Leukosit	Jenis Leukosit						
			Eosinofil	Basofil	Stab	Segmented	Limfosit	Monosit	
7	P0	1	6800	3			18	78	1
		2	6650	1			17	80	2
		3	6950	1			19	78	2
		4	6600	2			16	81	1
	P1	1	7050	3			12	82	3
		2	7000	1			18	80	1
		3	6750	3			10	85	2
		4	7300	2			15	82	1
	P2	1	8050	6			18	74	2
		2	9050	2			23	73	2
		3	7000	5			14	78	3
		4	7450	8			34	56	2
	P3	1	7200	5			15	77	3
		2	8100	3			20	76	1
		3	7550	6			16	77	1
		4	8150	10			19	69	2
14	P0	1	7250	2			13	83	2
		2	6750	1			22	76	1
		3	6900	4			16	77	3
		4	9350	2			14	83	1
	P1	1	8300	3			12	84	1
		2	12900	2			19	76	3
		3	8050	3			11	85	1
		4	10100	0			25	71	4
	P2	1	9150	2			11	86	1
		2	11950	3			20	75	2
		3	8450	2			18	78	2
		4	9600	1			12	86	1
	P3	1	7850	3			13	81	3
		2	8350	1			15	83	1
		3	9600	0			8	90	2
		4	8700	19			13	66	2
21	P0	1	6700	8			17	73	2
		2	9050	7			18	74	1
		3	6800	1			18	79	2
		4	6350	3			20	75	2
	P1	1	5800	6			8	85	1
		2	4100	0			13	86	1

		3	6650	7			18	72	3	
		4	6850	5			16	77	2	
	P2	1	4900	3			29	66	2	
		2	6250	6			15	77	2	
		3	3750	3			15	81	1	
		4	5900	8			13	77	2	
	P3	1	4550	1			14	82	3	
		2	4900	3			18	78	1	
		3	5050	1			15	82	2	
		4	3300	3			15	80	2	
28	P0	1	7150	3			27	68	2	
		2	6850	8			13	77	2	
		3	5850	2			30	66	2	
		4	8100	5			19	75	1	
		P1	1	5050	11			11	75	3
			2	5600	7			21	70	2
			3	8850	1			13	83	3
			4	5200	3			15	81	1
		P2	1	4450	2			18	79	1
			2	8950	7			30	61	2
			3	5300	4			11	85	0
			4	6950	3			9	86	2
		P3	1	6400	2			7	88	3
			2	7200	5			12	82	1
			3	6950	3			11	84	2
			4	6800	2			9	86	3

**Lampiran 6. Hasil pemeriksaan preparat hapusan darah**



**Gambar 1. Monosit**



**Gambar 2. Limfosit dan neutrofil**



**Gambar 3. Limfosit**

Lampiran 7. Analisis data jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-7 menggunakan ANAVA dan Uji Tukey.

## ANAVA

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	Jumlah Leukosit	3657968.750 <sup>a</sup>	3	1219322.917	4.559	.024
	Eosinofil	365363.188 <sup>b</sup>	3	121787.729	4.808	.020
	Neutrofil Segmen	1353414.813 <sup>c</sup>	3	451138.271	2.923	.077
	Limfosit	521598.625 <sup>d</sup>	3	173866.208	.597	.629
	Monosit	11562.875 <sup>e</sup>	3	3854.292	1.361	.302
Intercept	Jumlah Leukosit	865095156.25	1	865095156.3	3234.630	.000
	Eosinofil	1312743.063	1	1312743.063	51.821	.000
	Neutrofil Segmen	27844090.563	1	27844090.563	180.399	.000
	Limfosit	504316849.00	1	504316849.0	1731.030	.000
	Monosit	284089.000	1	284089.000	100.288	.000
perlakuan	Jumlah Leukosit	3657968.750	3	1219322.917	4.559	.024
	Eosinofil	365363.188	3	121787.729	4.808	.020
	Neutrofil Segmen	1353414.813	3	451138.271	2.923	.077
	Limfosit	521598.625	3	173866.208	.597	.629
	Monosit	11562.875	3	3854.292	1.361	.302
Error	Jumlah Leukosit	3209375.000	12	267447.917		
	Eosinofil	303889.750	12	25332.479		
	Neutrofil Segmen	1852171.625	12	154347.635		
	Limfosit	3496070.375	12	291339.198		
	Monosit	33893.625	12	2832.802		
Total	Jumlah Leukosit	871962500.00	16			
	Eosinofil	1982096.000	16			
	Neutrofil Segmen	31049677.000	16			
	Limfosit	508334518.00	16			
	Monosit	329645.500	16			
Corrected Total	Jumlah Leukosit	6867343.750	15			
	Eosinofil	689352.938	15			
	Neutrofil Segmen	3205586.438	15			
	Limfosit	4017669.000	15			
	Monosit	45556.500	15			

- a. R Squared = .533 (Adjusted R Squared = .416)  
 b. R Squared = .546 (Adjusted R Squared = .432)  
 c. R Squared = .422 (Adjusted R Squared = .278)  
 d. R Squared = .130 (Adjusted R Squared = -.088)  
 e. R Squared = .254 (Adjusted R Squared = .067)

## Uji Tukey

Dependent Variable	(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Jumlah Leukosit	P0	P1	-275.00	365.683	.874
		P2	-1137.50(*)	365.683	.039
		P3	-1000.00	365.683	.075
	P1	P0	275.00	365.683	.874
		P2	-862.50	365.683	.139
		P3	-725.00	365.683	.247
	P2	P0	1137.50(*)	365.683	.039
		P1	862.50	365.683	.139
		P3	137.50	365.683	.981
	P3	P0	1000.00	365.683	.075
		P1	725.00	365.683	.247
		P2	-137.50	365.683	.981
Eosinofil	P0	P1	-39.5000	112.54439	.984
		P2	-284.5000	112.54439	.105
		P3	-349.7500(*)	112.54439	.039
	P1	P0	39.5000	112.54439	.984
		P2	-245.0000	112.54439	.185
		P3	-310.2500	112.54439	.072
	P2	P0	284.5000	112.54439	.105
		P1	245.0000	112.54439	.185
		P3	-65.2500	112.54439	.936
	P3	P0	349.7500(*)	112.54439	.039
		P1	310.2500	112.54439	.072
		P2	65.2500	112.54439	.936
Neutrofil Segmen	P0	P1	213.7500	277.80176	.867
		P2	-578.1250	277.80176	.214
		P3	-181.3750	277.80176	.913
	P1	P0	-213.7500	277.80176	.867
		P2	-791.8750	277.80176	.061
		P3	-395.1250	277.80176	.510
	P2	P0	578.1250	277.80176	.214
		P1	791.8750	277.80176	.061
		P3	396.7500	277.80176	.507
	P3	P0	181.3750	277.80176	.913
		P1	395.1250	277.80176	.510
		P2	-396.7500	277.80176	.507
Limfosit	P0	P1	-428.3750	381.66687	.683
		P2	-201.1250	381.66687	.951
		P3	-436.5000	381.66687	.671
	P1	P0	428.3750	381.66687	.683
		P2	227.2500	381.66687	.932
		P3	-8.1250	381.66687	1.000
	P2	P0	201.1250	381.66687	.951
		P1	-227.2500	381.66687	.932
		P3	-235.3750	381.66687	.925
	P3	P0	436.5000	381.66687	.671
		P1	8.1250	381.66687	1.000
		P2	235.3750	381.66687	.925

Monosit	P0	P1	-20.8750	37.63510	.943
		P2	-73.7500	37.63510	.256
		P3	-32.3750	37.63510	.825
	P1	P0	20.8750	37.63510	.943
		P2	-52.8750	37.63510	.520
		P3	-11.5000	37.63510	.990
	P2	P0	73.7500	37.63510	.256
		P1	52.8750	37.63510	.520
		P3	41.3750	37.63510	.697
	P3	P0	32.3750	37.63510	.825
		P1	11.5000	37.63510	.990
		P2	-41.3750	37.63510	.697

Based on observed means.

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

**Lampiran 8. Analisis data jumlah dan jenis leukosit menciit pada hari ke-14 menggunakan ANAVA.**

**ANAVA**

**Tests of Between-Subjects Effects**

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	Jumlah Leukosit	14079218.750 <sup>a</sup>	3	4693072.917	2.016	.166
	Eosinofil	285131.797 <sup>b</sup>	3	95043.932	.591	.633
	Segmen Neutrofil	1091186.422 <sup>c</sup>	3	363728.807	1.132	.375
	Limfosit	8577338.625 <sup>d</sup>	3	2859112.875	1.915	.181
	Monosit	27552.125 <sup>e</sup>	3	9184.042	.805	.515
Intercept	Jumlah Leukosit	1282535156.3	1	1282535156	550.875	.000
	Eosinofil	1103812.891	1	1103812.891	6.866	.022
	Segmen Neutrofil	30083853.766	1	30083853.766	93.651	.000
	Limfosit	817388100.00	1	817388100.0	547.412	.000
	Monosit	471969.000	1	471969.000	41.386	.000
perlakuan	Jumlah Leukosit	14079218.750	3	4693072.917	2.016	.166
	Eosinofil	285131.797	3	95043.932	.591	.633
	Segmen Neutrofil	1091186.422	3	363728.807	1.132	.375
	Limfosit	8577338.625	3	2859112.875	1.915	.181
	Monosit	27552.125	3	9184.042	.805	.515
Error	Jumlah Leukosit	27938125.000	12	2328177.083		
	Eosinofil	1929298.563	12	160774.880		
	Segmen Neutrofil	3854789.063	12	321232.422		
	Limfosit	17918244.875	12	1493187.073		
	Monosit	136848.375	12	11404.031		
Total	Jumlah Leukosit	1324552500.0	16			
	Eosinofil	3318243.250	16			
	Segmen Neutrofil	35029829.250	16			
	Limfosit	843983683.50	16			
	Monosit	636369.500	16			
Corrected Total	Jumlah Leukosit	42017343.750	15			
	Eosinofil	2214430.359	15			
	Segmen Neutrofil	4945975.484	15			
	Limfosit	26495583.500	15			
	Monosit	164400.500	15			

- a. R Squared = .335 (Adjusted R Squared = .189)  
 b. R Squared = .129 (Adjusted R Squared = -.089)  
 c. R Squared = .221 (Adjusted R Squared = .026)  
 d. R Squared = .324 (Adjusted R Squared = .155)  
 e. R Squared = .168 (Adjusted R Squared = -.041)



**Lampiran 9.** Analisis data jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-21 menggunakan ANAVA dan Uji Tukey.

**ANAVA**

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	Jumlah Leukosit	16636875.000 <sup>a</sup>	3	5545625.000	4.455	.025
	Eosinofil	162890.547 <sup>b</sup>	3	54296.849	1.484	.269
	Segmen Neutrofil	864754.297 <sup>c</sup>	3	288251.432	3.288	.058
	Limfosit	8097083.125 <sup>d</sup>	3	2699027.708	4.149	.031
	Monosit	2726.500 <sup>e</sup>	3	908.833	.407	.751
Intercept	Jumlah Leukosit	516425625.00	1	516425625.0	414.869	.000
	Eosinofil	1016316.016	1	1016316.016	27.773	.000
	Segmen Neutrofil	14084070.766	1	14084070.766	160.856	.000
	Limfosit	308020050.25	1	308020050.3	473.458	.000
	Monosit	170982.250	1	170982.250	76.484	.000
perlakuan	Jumlah Leukosit	16636875.000	3	5545625.000	4.455	.025
	Eosinofil	162890.547	3	54296.849	1.484	.269
	Segmen Neutrofil	864754.297	3	288251.432	3.288	.058
	Limfosit	8097083.125	3	2699027.708	4.149	.031
	Monosit	2726.500	3	908.833	.407	.751
Error	Jumlah Leukosit	14937500.000	12	1244791.667		
	Eosinofil	439131.188	12	36594.266		
	Segmen Neutrofil	1051989.688	12	87665.807		
	Limfosit	7806910.625	12	650575.885		
	Monosit	26826.250	12	2235.521		
Total	Jumlah Leukosit	548000000.00	16			
	Eosinofil	1618337.750	16			
	Segmen Neutrofil	16000814.750	16			
	Limfosit	323924044.00	16			
	Monosit	200535.000	16			
Corrected Total	Jumlah Leukosit	31574375.000	15			
	Eosinofil	602021.734	15			
	Segmen Neutrofil	1916743.984	15			
	Limfosit	15903993.750	15			
	Monosit	29552.750	15			

a. R Squared = .527 (Adjusted R Squared = .409)

b. R Squared = .271 (Adjusted R Squared = .088)

c. R Squared = .451 (Adjusted R Squared = .314)

d. R Squared = .509 (Adjusted R Squared = .386)

e. R Squared = .092 (Adjusted R Squared = -.135)

## Uji Tukey

Dependent Variable	(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Jumlah Leukosit	P0	P1	1375.00	788.921	.345
		P2	2025.00	788.921	.099
		P3	2775.00(*)	788.921	.019
	P1	P0	-1375.00	788.921	.345
		P2	650.00	788.921	.842
		P3	1400.00	788.921	.331
	P2	P0	-2025.00	788.921	.099
		P1	-650.00	788.921	.842
		P3	750.00	788.921	.779
	P3	P0	-2775.00(*)	788.921	.019
		P1	-1400.00	788.921	.331
		P2	-750.00	788.921	.779
Eosinofil	P0	P1	68.0000	135.26689	.957
		P2	80.3750	135.26689	.932
		P3	271.5000	135.26689	.239
	P1	P0	-68.0000	135.26689	.957
		P2	12.3750	135.26689	1.000
		P3	203.5000	135.26689	.465
	P2	P0	-80.3750	135.26689	.932
		P1	-12.3750	135.26689	1.000
		P3	191.1250	135.26689	.515
	P3	P0	-271.5000	135.26689	.239
		P1	-203.5000	135.26689	.465
		P2	-191.1250	135.26689	.515
Segmen Neutrofil	P0	P1	493.0000	209.36309	.140
		P2	393.5000	209.36309	.287
		P3	622.6250(*)	209.36309	.050
	P1	P0	-493.0000	209.36309	.140
		P2	-99.5000	209.36309	.963
		P3	129.6250	209.36309	.924
	P2	P0	-393.5000	209.36309	.287
		P1	99.5000	209.36309	.963
		P3	229.1250	209.36309	.699
	P3	P0	-622.6250(*)	209.36309	.050
		P1	-129.6250	209.36309	.924
		P2	-229.1250	209.36309	.699
Limfosit	P0	P1	801.0000	570.34020	.520
		P2	1523.8750	570.34020	.083
		P3	1847.1250(*)	570.34020	.031
	P1	P0	-801.0000	570.34020	.520
		P2	722.8750	570.34020	.599
		P3	1046.1250	570.34020	.305
	P2	P0	-1523.8750	570.34020	.083
		P1	-722.8750	570.34020	.599
		P3	323.2500	570.34020	.940
	P3	P0	-	570.34020	.031
			1847.1250(*)	570.34020	
		P1	-1046.1250	570.34020	.305

Monosit	P0	P2	-323.2500	570.34020	.940
		P1	13.0000	33.43292	.979
		P2	27.2500	33.43292	.846
	P1	P3	33.7500	33.43292	.747
		P0	-13.0000	33.43292	.979
		P2	14.2500	33.43292	.973
	P2	P3	20.7500	33.43292	.923
		P0	-27.2500	33.43292	.846
		P1	-14.2500	33.43292	.973
	P3	P3	6.5000	33.43292	.997
		P0	-33.7500	33.43292	.747
		P1	-20.7500	33.43292	.923
		P2	-6.5000	33.43292	.997

Based on observed means.

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

**Lampiran 10.** Analisis data jumlah dan jenis leukosit mencit pada hari ke-28 menggunakan ANAVA.

**ANAVA**

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	Jumlah Leukosit	1689218.750 <sup>a</sup>	3	563072.917	.277	.841
	Eosinofil	28712.563 <sup>b</sup>	3	9570.854	.254	.857
	Segmen Neutrofil	1613357.875 <sup>c</sup>	3	537785.958	1.588	.244
	Limfosit	2551261.547 <sup>d</sup>	3	850420.516	.692	.574
	Monosit	9299.297 <sup>e</sup>	3	3099.766	.641	.603
Intercept	Jumlah Leukosit	697620156.25	1	697620156.3	342.627	.000
	Eosinofil	1234876.563	1	1234876.563	32.810	.000
	Segmen Neutrofil	18404100.000	1	18404100.000	54.360	.000
	Limfosit	420419142.02	1	420419142.0	341.961	.000
	Monosit	257175.766	1	257175.766	53.199	.000
perlakuan	Jumlah Leukosit	1689218.750	3	563072.917	.277	.841
	Eosinofil	28712.563	3	9570.854	.254	.857
	Segmen Neutrofil	1613357.875	3	537785.958	1.588	.244
	Limfosit	2551261.547	3	850420.516	.692	.574
	Monosit	9299.297	3	3099.766	.641	.603
Error	Jumlah Leukosit	24433125.000	12	2036093.750		
	Eosinofil	451843.375	12	37636.948		
	Segmen Neutrofil	4062684.625	12	338557.052		
	Limfosit	14753229.688	12	1229435.807		
	Monosit	58010.688	12	4834.224		
Total	Jumlah Leukosit	723742500.00	16			
	Eosinofil	1715232.500	16			
	Segmen Neutrofil	24080142.500	16			
	Limfosit	437723633.25	16			
	Monosit	324485.750	16			
Corrected Total	Jumlah Leukosit	26122343.750	15			
	Eosinofil	480355.938	15			
	Segmen Neutrofil	5676042.500	15			
	Limfosit	17304491.234	15			
	Monosit	67309.984	15			

- a. R Squared = .065 (Adjusted R Squared = -.169)  
 b. R Squared = .060 (Adjusted R Squared = -.175)  
 c. R Squared = .284 (Adjusted R Squared = .105)  
 d. R Squared = .147 (Adjusted R Squared = -.066)  
 e. R Squared = .138 (Adjusted R Squared = -.077)