

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA KINCUNG
(*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm.) TERHADAP JUMLAH TOTAL
LEUKOSIT, PERSENTASE LEUKOSIT, KADAR IgE DAN IL-4 PADA
MENCIT PUTIH JANTAN ALERGI**



**PROGRAM STUDI MAGISTER FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS ANDALAS
2020**

LEMBAR PERSETUJUAN

JUDUL: PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA KINCUNG
(*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm.) TERHADAP JUMLAH TOTAL LEUKOSIT,
PERSENTASE LEUKOSIT, KADAR IgE DAN IL-4 PADA MENCIT PUTIH
JANTAN ALERGI


Nama Mahasiswa : Relin Yesika
Nomor Pokok : 1821012019
Program Studi : Magister Farmasi

UNIVERSITAS ANDALAS


Tesis Ini Telah Druji Di Depan Sidang Panitia Ujian Akhir Pada Program
Studi Magister Farmasi Universitas Andalas Padang Dan Dinyatakan Lulus Pada
Tanggal 13 Januari 2020.

Menyetujui,

1. Komisi Pembimbing

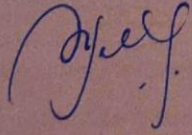

Dr. Yulri Aldi, M. Si, Apt

Pembimbing I


Dr. Elidahanum Husni, M.Si, Apt

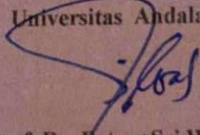
Pembimbing II

2. Koordinator Program Studi


Dr. Yelly Oktavia Sari, M. Pharm, Apt

NIP. 197810152005012004

3. Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Andalas

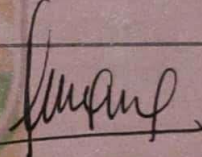
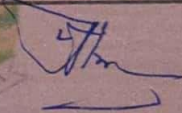
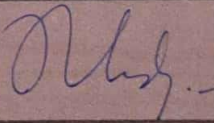
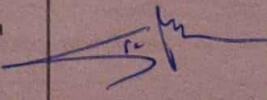
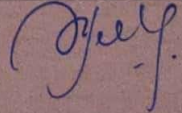

Prof. Dr. Fatma Sri Wahyuni, Apt

NIP. 197404132006042001

HASIL PENELITIAN INI TELAH DIUJI DAN DIPERTAHANKAN SEBAGAI
TESIS MAGISTER FARMASI PADA PROGRAM STUDI MAGISTER
FARMASI UNIVERSITAS ANDALAS PADANG

PADA TANGGAL 13 JANUARI 2020

Nama Mahasiswa : Relin Yesika
Nomor Pokok : 1821012019
Program Studi : Magister Farmasi
Judul Penelitian : Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Kincung (Eflingera
elator (Jack) R.M.Sm.) Terhadap Jumlah Total Leukosit,
Persentase Leukosit, Kadar IgE Dan IL-4 Pada Mencit
Putih Jantan Alergi

No	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Dr. Yufri Aldi, M. Si, Apt	Pembimbing I	
2	Dr. Elidahanum Husni, M. Si, Apt	Pembimbing II	
3	Prof. Dr. Almahdy A, Apt	Anggota	
4	Dr. Salman, M. Si, Apt	Anggota	
5	Dr. Yelly Oktavia Sari, M. Pharm, Apt	Anggota	

PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Relin Yesika

No. BP : 1821012019

Judul Tesis : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA
KINCUNG (ETLINGERA ELATIOR (JACK) R.M.SM.)
TERHADAP JUMLAH TOTAL LEUKOSIT,
PERSENTASE LEUKOSIT, KADAR IGE DAN IL-4
PADA MENCIT PUTIH JANTAN ALERGI

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Tesis yang saya tulis merupakan karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme dan data beserta seluruh isi Tesis tersebut adalah benar adanya.
2. Saya menyerahkan hak cipta dari Tesis tersebut kepada Fakultas Farmasi Universitas Andalas untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis

Padang, Januari 2020

Relin Yesika



KATA PERSEMBAHAN

Sembah sujud serta syukur kepada Allah SWT. Taburan cinta dan kasih sayang-Mu telah memberikanku kekuatan, membekaliku dengan ilmu serta memperkenalkanku dengan cinta. Atas karunia serta kemudahan yang Engkau berikan akhirnya Tesis yang sederhana ini dapat terselesaikan. Shalawat dan salam selalu terlimpahkan keharibaan Rasulullah Muhammad SAW.

Ku persembahkan karya sederhana ini kepada orang yang sangat ku sayangi.

Ibunda dan Ayahanda Tercinta

Sebagai tanda bakti, hormat dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya kecil ini kepada Ibu (Meli Susianti) dan Ayah (Abdul Haris) yang telah memberikan kasih sayang, secara dukungan, ridho, dan cinta kasih yang tiada terhingga yang tiada mungkin dapat kubalas hanya dengan selebar kertas yang bertuliskan kata persembahan. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat Ibu dan Ayah bahagia karena kusadar, selama ini belum bisa berbuat lebih. Untuk Ibu dan ayah yang selalu membuatku termotivasi dan selalu menyirami kasih sayang, selalu mendoakanku, selalu menasehatiku serta selalu meridhoiku melakukan hal yang lebih baik,

Kakak, adik-adik dan Orang terdekatku

Sebagai tanda terima kasih, aku persembahkan karya kecil ini untuk adik-adikku (Resa Elita dan Rendi Hidayat). Terima kasih telah memberikan semangat dan bantuan selama menyelesaikan Tugas Akhir ini. Semoga kita semua menjadi orang-orang yang sukses dunia akherat.. amiinn..

Teman – teman

Buat teman-teman-ku yang selalu memberikan motivasi, dukungan moral serta material yang selalu membuatku semangat untuk menyelesaikan tesis ini, Farmakologi Squad (kak Vilma, kak Lili, kak Ikha, kak Neni, Miming, Aisa, Ayu). Untuk teman2 seperjuangan pencari tanda tangan (Ani, Rara, Kak mutia, Papat) dan teman2 angkatan 2018.

Dosen Pembimbing Tugas Akhir

Bapak Prof. Dr. Yufri Aldi, M.Si, Apt selaku dosen pembimbing I, terima kasih yang tidak terhingga, bapak adalah pembimbing TERBAIK sedunia, terima kasih atas bimbingan dan kesabaran bapak dari S1, Apoteker, hingga S2. Terima kasih sebanyak-banyaknya (tidak ada kata-kata yang cukup untuk mengungkapkan betapa beruntungnya relin mengenal bapak dan memiliki bapak sebagai pembimbing)

Untuk ibu Dr. Elidahanum Husni, M.Si, Apt selaku pembimbing II, terima kasih banyak bu atas bimbingan dan arahannya untuk menyelesaikan tesis ini.

Dan untuk Bg Adit, terima kasih banyak bg, atas ilmu-ilmu baru, masukan dan bantuan terhadap tesis dan jurnal relin bg.

Tanpa mereka, karya ini tidak akan pernah tercipta.....

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbil'alamin, segala puji dan syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan judul **"PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA KINCUNG (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm.) TERHADAP JUMLAH TOTAL LEUKOSIT, PERSENTASE LEUKOSIT, KADAR IgE DAN IL-4 PADA MENCIT PUTIH JANTAN ALERGI"**. Tesis ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan pascasarjana Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

Selesainya penulisan tesis ini tidak lepas dari do'a dan dukungan yang diberikan oleh orang tua, saudara, keluarga dan rekan-rekan, baik moril maupun materil. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada Bapak Dr. Yufri Aldi, M.Si, Apt dan Ibu Dr. Elidahanum Husni, M.Si, Apt selaku komisi pembimbing yang telah meluangkan waktu, memberi petunjuk, ilmu, nasehat, dan bimbingan selama masa penelitian dan penyusunan tesis ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak dan Ibu penguji yaitu Prof. Dr. Almahdy A, Apt, Bapak Dr. Salman, M. Si, Apt dan Ibu Dr. Yelly Oktavia Sari M.Pharm, Apt.
2. Dekan Fakultas Farmasi Ibu Prof. Dr. Farma Sri Wahyuni, Apt, dan Kaprodi Pascasarjana Fakultas Farmasi Ibu Dr. Yelly Oktavia Sari, M.Pharm, Apt.
3. Rekan-rekan mahasiswa pascasarjana bidang sains dan klinis angkatan 2018 yang telah membantu serta memberikan dorongan kepada penulis selama pendidikan, penelitian dan penulisan tesis ini.
4. Rekan-rekan kerja serta analis labor di Laboratorium Serologi Imunologi, Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Central, dan Laboratorium Biomedik Universitas Andalas yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama pelaksanaan penelitian.
5. Bapak dan Ibu staf pengajar, karyawan-karyawati dan para analis laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

Dalam penulisan tesis ini, penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan dan kelemahan, oleh karena itu kritik dan saran dari pembaca sangat diharapkan agar tesis ini menjadi lebih baik lagi. Semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Padang, 13 Januari 2020



Penulis

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA KINCUNG
(*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm.) TERHADAP JUMLAH TOTAL
LEUKOSIT, PERSENTASE LEUKOSIT, KADAR IgE DAN IL-4 PADA
MENCIT PUTIH JANTAN ALERGI**

Oleh: Relin Yesika (1821012019)

(Dibawah bimbingan: Dr. Yufri Aldi M, Si,Apt dan Dr. Elidahanum Husni, M. Si, Apt)

UNIVERSITAS ANDALAS

Abstrak

Penelitian ini telah dilakukan untuk mengetahui aktivitas bunga kincung (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm.) terhadap jumlah total leukosit, persentase leukosit, kadar IgE dan IL-4 mencit putih jantan alergi. Pada penelitian ini menggunakan mencit putih jantan alergi. Mencit alergi dibuat dengan cara menyuntikan antigen (ovalbumin 20%) pada hari pertama 0,2 mL/20 gBB secara intraperitoneal. Hari ke-7 disuntikan antigen dengan dosis sama secara subkutan. Ciri-ciri dari mencit alergi adalah kemerahan ditempat penyuntikan hingga adanya bentolan-bentolan merah disekitar tempat penyuntikan. Kemudian mencit dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan tiga kelompok sediaan uji yang diberikan selama 7 hari (100; 300; dan 1000 mg/kgBB). Hasil penelitian ini menyatakan bahwa ekstrak bunga kincung secara signifikan meningkatkan jumlah total leukosit ($<0,05$), meningkatkan persentase sel netrofil ($<0,05$), menurunkan persentase limfosit, eosinofil, dan basofil ($<0,05$), menurunkan kadar IgE dan IL-4 ($<0,05$) dan menurunkan persentase monosit secara tidak signifikan. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa bunga kincung dapat digunakan sebagai imunomodulator dan obat anti alergi.

Kata kunci: Alergi, *Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm, IgE, IL-4, Kincung, Leukosit.

UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

**THE EFFECT OF KINCUNG FLOWER (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm.)
EXTRACT ON TOTAL LEUKOCYTES, THE PERCENTAGE OF
LEUKOCYTES, IgE AND IL-4 LEVELS IN ALLERGIC WHITE MALE
MICE.**

By: Relin Yesika (1821012019)

(Supervised by: Dr. Dr. Yufri Aldi M, Si,Apt dan Dr. Elidahanum Husni, M. Si, Apt)

UNIVERSITAS ANDALAS
Abstract

The research was conducted to determine the activity of kincung flowers (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm.) on total leukocytes, the percentage of leukocytes, IgE and IL-4 levels in allergic male white mice. It used is allergic white male mice. The allergic mice are made by injecting antigens (20% oval albumin) on the first day 0.2 mL / 20 g BW intraperitoneally. At the seventh day, mice injected antigen with the same dose subcutaneously. The characteristics of allergic mice are redness at the injection site until there are red bumps around the injection site then mice were divided into 5 groups: negative control group, positive control group, and three groups of test preparations given for 7 days (100; 300; and 1000 mg/kg BW). The results showed that kincung flower extract was significantly increase the total leukocytes (<0.05), increase the percentage of neutrophil (<0.05), decrease the percentage of lymphocytes, eosinophils and basophils (<0.05), decrease IgE and IL-4 levels (<0.05), while the persentage of monocytes was decrease unsignificantly ($>0,05$). It could be conclude that the kincung flower extract can be use as immunomodulators and anti-allergic drugs.

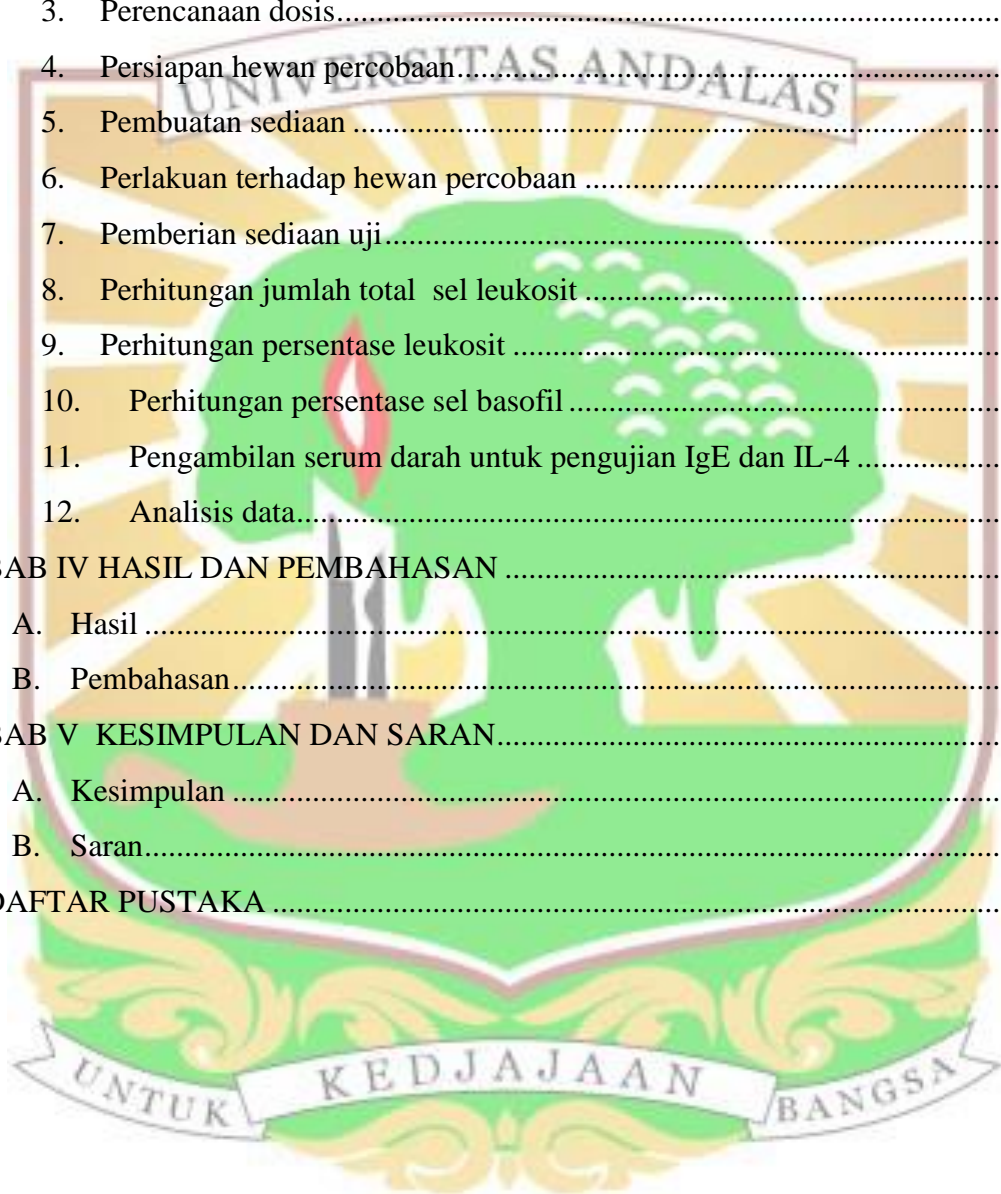
Keyword: Allergic, Etilingera elatior (Jack) R.M.Sm, *IgE, IL-4, Kincung, Leukocytes.*



DAFTAR ISI

COVER	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tinjauan Botani Tumbuhan	6
1. Klasifikasi bunga kincung	6
2. Nama daerah bunga kincung	6
3. Sinonim Bunga Kincung	7
4. Morfologi Bunga Kincung	7
5. Kandungan Kimia Bunga Kincung	7
6. Tinjauan Farmakologi Bunga Kincung	8
B. Tinjauan Imunologi	9
1. Sistem Imun	9
2. Leukosit	13
3. Antibodi	18
4. Sitokin	21
5. Reaksi Hipersensitivitas	24
6. Obat obat alergi untuk mengatasi Alergi	28
C. Kerangka Konsep	9

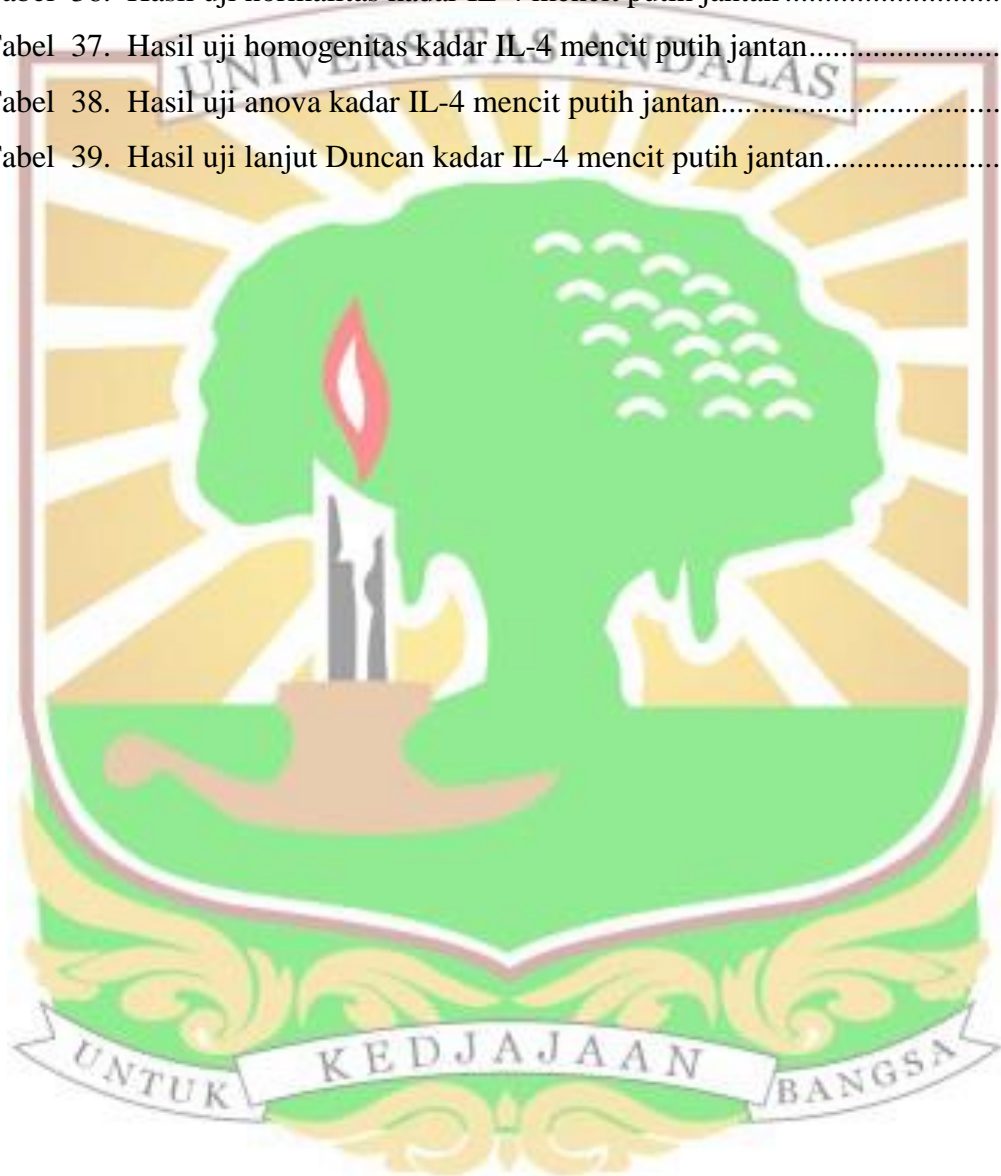
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	30
A. Waktu dan tempat penelitian.....	30
B. Metode penelitian.....	30
1. Persiapan alat dan bahan	30
2. Prosedur kerja.....	31
3. Perencanaan dosis.....	38
4. Persiapan hewan percobaan.....	39
5. Pembuatan sediaan	39
6. Perlakuan terhadap hewan percobaan	39
7. Pemberian sediaan uji.....	40
8. Perhitungan jumlah total sel leukosit	40
9. Perhitungan persentase leukosit	40
10. Perhitungan persentase sel basofil	41
11. Pengambilan serum darah untuk pengujian IgE dan IL-4	41
12. Analisis data.....	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	42
A. Hasil	42
B. Pembahasan.....	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	54
A. Kesimpulan	54
B. Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA	56



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Jenis jenis sitokin.	22
Tabel 2. Hasil penentuan rendemen ekstrak bunga kincung.....	71
Tabel 3. Deskripsi tata nama ekstrak bunga kincung.....	71
Tabel 4. Hasil penentuan organoleptis ekstrak bunga kincung.....	71
Tabel 5. Hasil penentuan susut pengeringan ekstrak bunga kincung.....	72
Tabel 6. Hasil penetapan kadar abu ekstrak bunga kincung.....	72
Tabel 7. Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam ekstrak bunga kincung.....	72
Tabel 8. Uji dfitokimia ekstrak bunga kincung.....	73
Tabel 9. Nilai Rf Kromatografi lapis tipis ekstrak bunga kincung.....	74
Tabel 10. Data hasil pengukuran absorbansi pembanding rutin.....	74
Tabel 11. Pengukuran kadar flavonoid total dari ekstrak bunga kincung.....	75
Tabel 12. Jumlah leukosit total mencit putih jantan.....	76
Tabel 13. Persentase leukosit mencit putih jantan.....	77
Tabel 14. Persentase jumlah sel basofil mencit putih jantan.....	78
Tabel 15. Kadar IgE mencit putih jantan.....	79
Tabel 16. Kadar IL-4 mencit putih jantan.....	80
Tabel 17. Hasil uji normalitas jumlah leukosit total mencit putih jantan.....	81
Tabel 18. Hasil uji homogenitas jumlah leukosit total mencit putih jantan.....	81
Tabel 19. Hasil uji Anova satu arah jumlah leukosit total mencit putih jantan ...	81
Tabel 20. Hasil uji Duncan jumlah leukosit total mencit putih jantan.....	81
Tabel 21. Hasil uji normalitas persentase leukosit mencit putih jantan.....	82
Tabel 22. Hasil uji homogenitas jumlah leukosit total mencit putih jantan.....	82
Tabel 23. Hasil uji Anova satu arah persentase leukosit mencit putih jantan.....	83
Tabel 24. Hasil uji lanjut Duncan limfosit mencit putih jantan.....	83
Tabel 25. Hasil uji lanjut Duncan netrofil mencit putih jantan.....	84
Tabel 26. Hasil uji lanjut Duncan monosit mencit putih jantan.....	84
Tabel 27. Hasil uji lanjut Duncan eosinofil mencit putih jantan.....	84
Tabel 28. Hasil uji normalitas persentase jumlah basofil mencit putih jantan....	85
Tabel 29. Hasil uji homogenitas persentase jumlah basofil mencit putih jantan	85
Tabel 30. Hasil uji anova satu arah persentase jumlah basofil mencit putih.....	85

Tabel 31. Hasil uji lanjut Duncan jumlah basofil mencit putih jantan.....	85
Tabel 32. Hasil uji normalitas kadar IgE mencit putih jantan.....	86
Tabel 33. Hasil uji homogenitas kadar IgE mencit putih jantan	86
Tabel 34. Hasil uji anova kadar IgE mencit putih jantan.....	86
Tabel 35. Hasil uji lanjut Duncan kadar IgE mencit putih jantan	86
Tabel 36. Hasil uji normalitas kadar IL-4 mencit putih jantan	87
Tabel 37. Hasil uji homogenitas kadar IL-4 mencit putih jantan.....	87
Tabel 38. Hasil uji anova kadar IL-4 mencit putih jantan.....	87
Tabel 39. Hasil uji lanjut Duncan kadar IL-4 mencit putih jantan.....	87



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bunga kincung.....	6
Gambar 2. Diferensial sel leukosit.....	18
Gambar 3. Hipersensitivitas tipe I.....	24
Gambar 4. Hipersensitivitas tipe II.....	25
Gambar 5. Hipersensitivitas tipe III.....	26
Gambar 6. Hipersensitivitas tipe IV.....	27
Gambar 7. Kerangka konseptual penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 8. Skema kerja pembuatan ekstrak etanol bunga kincung.....	65
Gambar 9. Skema kerja pembuatan putih jantan alergi & pemberian sediaan uji.....	66
Gambar 10. Skema kerja proses pengambilan serum mencit.....	67
Gambar 11. Skema kerja penentuan jumlah total leukosit.....	68
Gambar 12. Skema kerja perhitungan persentase leukosit.....	69
Gambar 13. Skema kerja perhitungan persentase sel basofil.....	70
Gambar 14. Kromatografi lapis tipis ekstrak bunga kincung.....	73
Gambar 15. Pengukuran Panjang gelombang maksimum rutin.....	74
Gambar 16. Kurva kalibrasi pembanding Rutin.....	75
Gambar 17. Grafik Jumlah leukosit total mencit putih jantan.....	76
Gambar 18. Grafik persentase leukosit mencit putih jantan.....	77
Gambar 19. Grafik persentase jumlah sel basofil mencit putih jantan.....	78
Gambar 20. Grafik kadar IgE mencit putih jantan.....	79
Gambar 21. Grafik kadar IL-4 mencit putih jantan.....	80
Gambar 22. Surat hasil identifikasi tanaman bunga kincung.....	90
Gambar 23. Surat lulus kaji etik.....	91
Gambar 24. Bunga kincung.....	92
Gambar 25. Simplisia kering bunga kincung.....	92
Gambar 26. Gambar sel leukosit mencit putih jantan alergi.....	93



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema kerja penelitian.....	65
Lampiran 2. Hasil penelitian	71
Lampiran 3. Uji statistik.....	81
Lampiran 4. Contoh Perhitungan	88
Lampiran 5. Gambar Hasil Penelitian.....	90



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tubuh memiliki sistem pertahanan terhadap benda asing dan patogen yang yang dikenal sebagai sistem imun. Suatu respon imun timbul karena adanya reaksi yang dikoordinasi sel-sel, molekul-molekul terhadap mikroba dan bahan lainnya yang masuk kedalam tubuh. Sistem imun terdiri dari sistem imun alamiah atau non spesifik dan didapat atau spesifik. Dimana pada umumnya kedua sistem imun ini menguntungkan bagi tubuh sebagai protektif tubuh terhadap infeksi atau pertumbuhan kanker, tetapi selain itu juga dapat menimbulkan suatu penyakit yang disebut sebagai reaksi hipersensitivitas. Hipersensitivitas adalah peningkatan reaktivitas atau sensitivitas terhadap antigen yang pernah terpapar atau dikenal sebelumnya (Baratawidjaja & Rengganis, 2014). Reaksi hipersensitivitas terbagi menjadi 4 tipe berdasarkan kecepatan dan mekanisme imun yaitu hipersensitivitas tipe I reaksi anafilaksis, tipe II reaksi sitotoksik, tipe III reaksi kompleks antigen antibodi dan tipe IV reaksi hipersensitivitas tertunda (Bratawidjaja & Rengganis, 2014; Abbas *et al.*, 2015).

Reaksi hipersensitivitas tipe I atau yang dikenal sebagai reaksi alergi dalam kehidupan sehari-hari (Abbas *et al.*, 2015) atau reaksi anafilaksis (Subowo, 2010) adalah reaksi hipersensitivitas tipe cepat atau langsung yang terjadi dalam waktu detik sampai menit setelah terpajan antigen untuk melepaskan mediator-mediator yang terdapat dalam sel seperti histamin, bradikinin, asam arakidonat dan prostaglandin. Akibatnya dapat menyebabkan rinitis alergi, asma, dermatitis atopi, memerahnya kulit dan sesak nafas (Baratawidjaja & Rengganis, 2014) dan reaksi hipersensitivitas tipe I merupakan reaksi dengan manifestasi tercepat diantara ketiga tipe lain (Subowo, 2010). Reaksi ini timbul akibat interaksi antibodi IgE spesifik (Abbas *et al.*, 2015)

dengan beberapa tipe antigen spesifik pula yang disebut sebagai alergen. Masuknya alergen ke dalam tubuh menimbulkan respon imun dengan dibentuknya IgE dan selanjutnya IgE tersebut terikat pada permukaan sel mast dan sel basofil (Robinson *et al.*, 2004; Bellavite 2006; Abbas *et al.*, 2015).

Proses pemaparan alergen dimulai dengan proses fagositosis oleh sel makrofag. Sel makrofag berperan sebagai *antigen presenting cell* (APC). Alergen yang tidak habis dicerna akan dipresentasikan ke permukaan APC sebagai peptida-peptida pendek dan berikatan dengan *major histocompatibility complex* (MHC) kelas II pada permukaan sel APC. Dan selanjutnya dipresentasikan ke sel Th0 (*helper naif*). Sehingga sel Th0 akan berdiferensiasi menjadi sel TH2. Sel makrofag akan melepaskan interleukin-1 (IL-1), IL-12 dan tumor necrosis factor- α . Kemudian interleukin-1 (IL-1) dan IL-12 terikat pada sel Th0 (Abbas *et al.*, 2015). Sel Th2 selanjutnya akan melepaskan beberapa sitokin seperti IL-4, IL-5, IL-10, dan IL-13 (Burtis *et al.*, 2006), yang menstimulasi perubahan isotipe (*isotype switching*) sel B untuk memproduksi IgE spesifik antigen dan proliferasi eosinofil, sel mast, dan neutrofil (Abbas *et al.*, 2015). Alergen yang masuk juga diproses oleh sel mast dan sel basophil sehingga sel ini melepaskan IL-4. IL-4 mempunyai efek langsung pada sel limposit B dan Sel B spesifik berdiferensiasi dan berproliferasi menjadi sel plasma untuk memproduksi IgE (Karlsson *et al.*, 2004; Maizels, 2005; Levinson, 2014). Antibodi IgE berikatan kuat dengan reseptor Fc (Fc ϵ RI) pada permukaan basofil dan sel mast. Sel mast yang telah berikatan dengan IgE inilah yang telah aktif disebut sel mast yang telah tersensitisasi (Mandhane *et al.*, 2011; Levinson, 2014).

Ketika tubuh terpapar alergen yang kedua kalinya, maka alergen akan berikatan dengan IgE yang sudah terikat pada permukaan sel mast dan sel basophil. Ikatan ini akan memicu aktivitas enzimatik pada membran sel tersebut dan selanjutnya terjadi pelepasan mediator-mediator inflamasi primer. Mediator utama yang dilepaskan adalah histamin dan faktor kemotaktik. Sedangkan faktor kemotaktik terbagi *Eosinophil Chemotactic Factor of Anaphylaxis* (ECF-A) dan

Neutrophil Chemotactic Factor of Anaphylaxis (NCF-A). Histamin menyebabkan bentolan warna kemerahan pada kulit, peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan kontraksi otot polos (Janeway, 2001; Kresno, 2001; Bochner dan Busse, 2005; Subowo, 2010; Abbas *et al.*, 2015).

Angka kejadian penyakit alergi cukup tinggi diberbagai belahan dunia, baik di negara maju maupun negara berkembang. Manifestasi sering muncul di 2 dekade awal yang menyebabkan masalah terutama pada masa anak-anak (Pawankar *et al.*, 2011). Menurut The International Study on Asthma and /Allergies in Childhood (ISAAC) prevalensi gejala rinitis pada anak bervariasi antara 0,8% sampai 14,9% pada usia 6-7 tahun dan antara 1,4% sampai 39,7% pada 13-14 tahun. Indonesia termasuk dalam Negara-negara dengan prevalensi rendah, selain Albania, Rumania, Georgia dan Yunani. Sedangkan negara-negara dengan prevalensi tinggi yaitu Australia, Selandia Baru dan Inggris (Pawankar *et al.*, 2011; WAO, 2017). World Allergy Organization (WAO) memperkirakan prevalensi alergi dari seluruh populasi negara berkisar antara 10-40% (Pawankar *et al.*, 2013). Sedangkan kejadian alergi di Indonesia bervariasi diberbagai daerah mulai dari 3% hingga 60% (Sumadiono *et al.*, 2015).

Kincung (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm.) sudah sejak lama dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat. Penelitian terbaru menyatakan bahwa bunga kincung terbukti dapat menghambat reaksi anafilaksis kutan aktif pada mencit (Kardela *et al.*, 2017) menghambat degranulasi sel mast mencit (Aldi *et al.*, 2016), dan meningkat aktivitas fagositosis sel makrofag (Aldi *et al.*, 2016).

Selain itu tumbuhan kincung yang mengandung alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid, saponin dan minyak atsiri (Naufalin *et al.*, 2005) juga memiliki banyak khasiat seperti anti kanker dan tumor (Murakami *et al.*, 2000; Lestari dan Ruswanto, 2015) dan menunjukkan aktivitas antikanker terhadap sel Hela kanker serviks (kanker payudara CEM-SS dan sel MCF-7 (Habsah *et al.*, 2005), pada kanker kulit (Krajarng *et al.*, 2017), antioksidan yang tinggi (Wijokoon *et al.*, 2010; Andarwulan *et al.*, 2010) dan antibakteri terhadap

bakteri gram-positif *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, dan *Staphylococcus aureus* (Chan *et al.*, 2007; Lachumy *et al.*, 2010), antidiabetes dan antiinflamasi (Srey *et al.*, 2014), *whitening* dan *antiaging* (Nithitanakool *et al.*, 2014).

Berdasarkan adanya aktivitas ekstrak etanol bunga kincung dalam menghambat hipersensitivitas kutan aktif, degranulasi sel mast dan aktivitas fagositosis sel makrofag, maka peneliti tertarik untuk melanjutkan penelitian terkait aktivitas bunga kincung terhadap jumlah total leukosit, persentase leukosit, kadar IgE dan IL-4 mencit jantan yang mengalami alergi.

B. Rumusan masalah

1. Bagaimana pengaruh dari pemberian ekstrak etanol bunga kincung dengan variasi dosis terhadap jumlah total leukosit mencit putih jantan alergi.
2. Bagaimana pengaruh dari pemberian ekstrak etanol bunga kincung dengan variasi dosis terhadap persentase leukosit (persentase netrofil, monosit, limfosit, eosinofil, dan basofil) mencit putih jantan alergi.
3. Bagaimana pengaruh dari pemberian ekstrak etanol bunga kincung dengan variasi dosis terhadap kadar IgE mencit putih jantan alergi.
4. Bagaimana pengaruh dari pemberian ekstrak etanol bunga kincung dengan variasi dosis terhadap kadar IL-4 mencit putih jantan alergi.
5. Apakah ekstrak etanol bunga kincung memiliki efek antialergi dan efek imunomodulator.

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga kincung dengan variasi dosis terhadap jumlah total leukosit mencit putih jantan alergi.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga kincung dengan variasi dosis terhadap persentase leukosit (persentase netrofil, monosit, limfosit, eosinofil, dan basofil) pada mencit putih jantan alergi.
3. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga kincung dengan variasi dosis terhadap kadar IgE mencit putih jantan alergi.

4. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga kincung dengan variasi dosis terhadap kadar IL-4 mencit putih jantan alergi.
5. Untuk mengetahui apakah bunga kincung dapat digunakan sebagai antialergi dan imunomodulator.

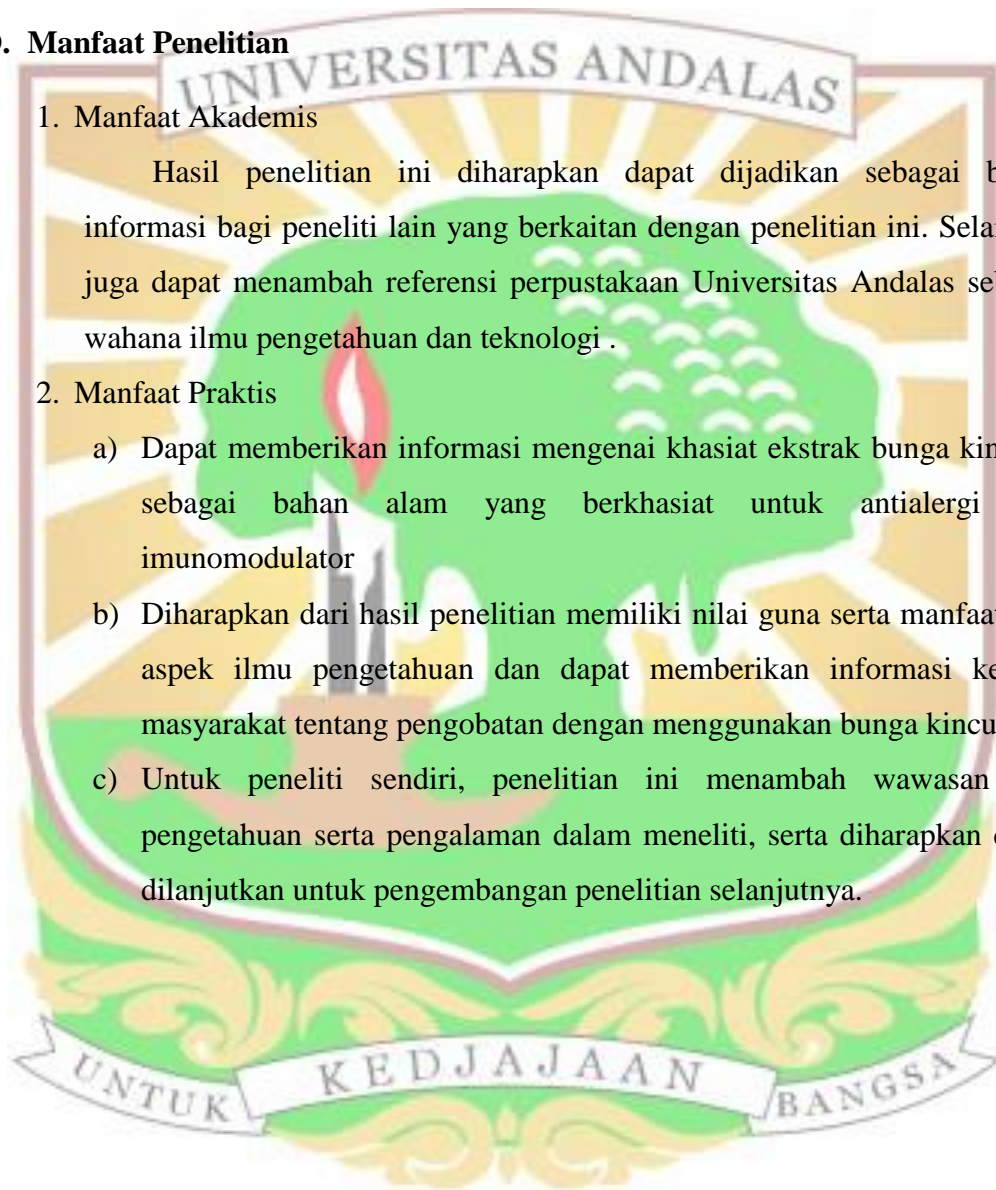
D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Akademis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai bahan informasi bagi peneliti lain yang berkaitan dengan penelitian ini. Selain itu juga dapat menambah referensi perpustakaan Universitas Andalas sebagai wahana ilmu pengetahuan dan teknologi .

2. Manfaat Praktis

- a) Dapat memberikan informasi mengenai khasiat ekstrak bunga kincung sebagai bahan alam yang berkhasiat untuk antialergi dan imunomodulator
- b) Diharapkan dari hasil penelitian memiliki nilai guna serta manfaat dari aspek ilmu pengetahuan dan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang pengobatan dengan menggunakan bunga kincung
- c) Untuk peneliti sendiri, penelitian ini menambah wawasan dan pengetahuan serta pengalaman dalam meneliti, serta diharapkan dapat dilanjutkan untuk pengembangan penelitian selanjutnya.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Botani Tumbuhan

1. Klasifikasi Bunga Kincung

Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Liliopsida
 Ordo : Zingiberales
 Famili : Zingiberaceae
 Genus : *Etilingera*
 Spesies : *Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm.
 (Hidayat & Hutapea, 1991; Khaw, 2001).



Gambar 1. Bunga kincung (Departemen Kesehatan, 2011)

2. Nama Daerah Bunga Kincung

Nama pada Farmakope Herbal adalah kecombrang. Adapun nama daerahnya adalah Kala sebutan untuk masyarakat Gayo, Kincung atau sambuang adalah sebutan untuk masyarakat Minangkabau, Kecombrang adalah sebutan untuk masyarakat Jawa Tengah, Honje adalah sebutan untuk masyarakat Sunda, Atimengo adalah sebutan untuk masyarakat Gorontalo, Katimbang adalah sebutan untuk masyarakat Makasar, Salahawa adalah

sebutan untuk masyarakat Seram, Petikala adalah sebutan untuk masyarakat Ternate, Petikala adalah sebutan untuk masyarakat Tidore (Hidayat & Hutapea, 1991).

3. Sinonim Bunga Kincung

Kincung memiliki beberapa nama latin seperti *Etilingera elatior* (Jack) R.M. Sm, *Nicolaia speciosa* Horan, *Nicolaia elatior* Horan, *Phaeomeria maggnifica* (Roscoe), *Phaeomorria speciosa* (Blume), *Phaeomorria intermedia* Valet (Tampubolon *et al.*, 1983). *Alpinia elatior* (Jack), *Elettaria speciosa* Blume, *Alpinia magnifica* Roscoe, *Phaeomeria imperialis*, *Hornstedtia imperialis*, *Nicolaia imperialis* Horan (Khaw, 2001).

4. Morfologi Bunga Kincung

Kincung merupakan tumbuhan dengan tinggi dari 1 sampai 3 meter. Batangnya semu, tegak, berpelepah, membentuk rimpang hijau. Daunnya tunggal, lanset, ujung dan pangkalnya runcing, tepi rata, panjang daun dari 20-30 cm, lebarnya 5-15 cm, pertulangan menyirip, warna hijau. Bunga kincung merupakan bunga majemuk dengan bentuk bongkol dengan panjang tangkai berkisar 40-80 cm. Panjang benang sari $\pm 7,5$ cm dan berwarna kuning. Putiknya berukuran kecil, pendek dan berwarna putih. Mahkota bunga bertajuk, dan berwarna merah muda. Biji kincung berbentuk kotak atau bulat telur dengan warna putih atau merah jambu. Buahnya berukuran kecil dan berwarna coklat. Sistem perakaran serabut dan berwarna kuning gelap (Hidayat & Hutapea, 1991).

5. Kandungan Kimia Bunga Kincung

Daun, batang, bunga dan rimpang kincung mengandung saponin dan flavonoid, disamping itu rimpangnya mengandung polifenol dan minyak atsiri (Hidayat & Hutapea, 1991). Batang dan bunga kincung mengandung

senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, steroid, vitamin, mineral dan glikosida yang berperan antioksidan (Lachumy *et al.*, 2010; Wijekoon *et al.*, 2011; Rohkyani dan Suryani, 2015; Khor *et al.*, 2017).

Kandungan kimia yang terdapat dalam bunga kincung, antara lain alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid, saponin dan minyak atsiri (Naufalin *et al.*, 2005). Beberapa senyawa telah terdeteksi secara GC-MS terkandung dalam bunga kincung diantaranya β -pinen, karyofilen dan farnesen. Dan pada daun, batang, bunga, dan rimpang kincung memiliki minyak esensial yaitu pada daun sebesar 0,0735%, bunga sebesar 0,0334%, batang sebesar 0,0029% dan rimpang sebesar 0,0021% (Jaafar *et al.*, 2007).

Maimulyanti dan Prihadi (2015) menyatakan bahwa terdapat 39 komponen kimia yang ditemukan pada bunga kincung dari Indonesia yang dianalisis menggunakan GC-MS, diantaranya 1-dodecanol (13.82%), dodecanol (12.10%), and 17-pentatriacontene (10.52%). Dan menurut Farmakope Herbal Indonesia bunga kincung mengandung flavonoid total tidak kurang dari 0,58% yang dihitung sebagai rutin (Departemen Kesehatan, 2011).

6. Tinjauan Farmakologi Bunga Kincung

Kincung merupakan salah satu jenis tanaman rempah rempah yang sejak lama telah dikenal dan dimanfaatkan oleh manusia sebagai obat-obatan yang berkaitan dengan khasiatnya, yaitu penghilang bau badan dan mulut (Samsuhidayat & Hutapea, 2000). Bunga kincung juga menunjukkan aktivitas biologik sebagai antioksidan dan antibakteri (Naufalin *et al.*, 2005; Chan *et al.*, 2007; Lachumy *et al.*, 2010; Abdelwhab *et al.*, 2010). Menurut Maimulyanti dan Prihadi (2015) menyatakan potensi aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol bunga kincung lebih tinggi dari pada ekstrak etil asetat dan n-hexan bunga kincung. Menurut Sukandar *et al.*, (2010) bahwa ekstrak air bunga kincung bersifat antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan

Staphylacoccus aureus. Bunga kincung juga memiliki aktivitas *antiaging* dan *skin whitening* (Nithitanakool *et al.*, 2014).

Selain itu kincung dapat digunakan untuk mengobati penyakit yang tergolong berat seperti kanker dan tumor (Habsah *et al.*, 2005; Murakami *et al.*, 2000). Hal serupa juga dinyatakan oleh Lestari dan Ruswanto (2015) bahwa kincung memiliki aktivitas sitotoksik dan berpotensi sebagai antikanker.

Minyak atsiri dari daun kincung memiliki aktivitas penolak nyamuk (Renaninggalih *et al.*, 2014) dan memiliki aktivitas antibakteri (Chan *et al.*, 2010) serta antioksidan (Habsah *et al.*, 2005). Dan rimpang kincung juga memiliki aktivitas antidiabetes dan antiinflamasi (Srey *et al.*, 2014).

B. Tinjauan Immunologi

1. Sistem Imun

Saat benda asing masuk kedalam tubuh, tubuh akan melakukan pertahanan atau perlawanan yang dilakukan oleh sistem imun yang disebut juga sistem limforetikular. Benda asing yang masuk dapat berupa mikroorganisme, benda padat kecil, kuman penyakit dan kanker. Sistem limforetikular tersusun atas sel limfosit T, limfosit B, sel-sel monosit, makrofag komplemen dan faktor lainnya. Ini tersebar diseluruh jaringan tubuh seperti limfa, kelenjar limfa, timus, sumsum tulang dan tempat yang sering kontak dengan zat asing seperti saluran pencernaan, saluran pernafasan, selaput lendir (Bratawidjaya & Rengganis, 2014).

Bila sistem imun terpapar pada zat yang dianggap asing, maka ada dua jenis respon imun yang mungkin terjadi yaitu :

a. Respon Imun Non Spesifik

Komponen-komponen utama sistem imun non spesifik adalah pertahanan fisik dan kimiawi seperti epitel dan substansi antimikroba yang diproduksi pada permukaan epitel, berbagai jenis protein dalam darah termasuk diantaranya komponen-komponen sistem komplemen,

mediator inflamasi lainnya dan berbagai sitokin, sel-sel fagosit yaitu sel-sel polimorfonuklear dan makrofag serta sel *natural killer* (Kresno, 2001).

1) Pertahanan fisik

Pertahanan fisik ini terdiri dari kulit dan epitel lapisan mukus yang dalam kondisi normal tidak dapat ditembus mikrobal. Selain itu gerakan dapat melepaskan mikroorganisme, seperti pada reflek batuk, bersin dan muntah, bersama-sama dengan gerakan yang konstan seperti bergetarnya silia pada traktus respiratorius dan peristaltik usus (Bratawidjaya & Rengganis, 2014; Abbas *et al.*, 2015).

2) Pertahanan biokimia

Lisozim dalam keringat, ludah, air mata dan air susu ibu melindungi tubuh terhadap berbagai kuman gram positif dapat menghancurkan lapisan peptidoglikan dinding bakteri, asam dalam saluran pencernaan oleh enzim proteolitik dan cairan empedu dalam usus halus dan oleh asiditas vagina (Bratawidjaya & Rengganis, 2014; Abbas *et al.*, 2015).

3) Pertahanan humoral

Sistem imun nonspesifik menggunakan berbagai molekul larut. Molekul larut tertentu diproduksi di tempat infeksi atau cedera dan berfungsi lokal. Molekul tersebut antara lain adalah peptide antimikroba seperti defensin, katelisidin dan IFN dengan efek antiviral. Faktor larut lainnya diproduksi di tempat yang lebih jauh dan dikerahkan ke jaringan sasaran melalui sirkulasi seperti komplemen, protein fase akut, mediator asal fosfolipid dan sitokin seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α (Bratawidjaya & Rengganis, 2014; Abbas *et al.*, 2015).

4) Pertahanan Selular

Fagosit, sel NK, sel mast dan eosinofil berperan dalam sistem imun nonspesifik selular. Sel-sel sistem imun tersebut dapat ditemukan dalam sirkulasi atau jaringan. Fagositosis adalah garis pertahanan kedua tubuh terhadap agen infeksius. Pertahanan ini terdiri dari proses penelanan dan pencernaan mikroorganisme serta toksin setelah berhasil menembus tubuh (Bratawidjaya & Rengganis, 2014; Abbas *et al.*, 2015).

Respon ini menimbulkan manifestasi seperti:

1) Proses Fagositosis

Dalam proses ini leukosit yang termasuk fagosit memegang peran yang amat penting, khususnya makrofag demikian pula dengan neutrofil dan monosit yang disebut dengan *cell eating*. Proses yang terjadi sebagai berikut: pengenalan dari benda yang akan dicerna, kemotaksis, perletakan, pengenalan dan pencernaan intraseluler dan mekanisme-mekanisme antimikroba (Abbas *et al.*, 2015).

2) Proses inflamasi

Reaksi ini terjadi akibat dilepaskannya mediator mediator tertentu oleh beberapa jenis sel misalnya histamin yang dilepaskan oleh basofil dan mastosit, *vasoactive amine* yang dilepaskan oleh trombosit serta anafilatoksin berasal dari komponen-komponen komplemen yang merangsang pelepasan mediator-mediator oleh mastosit dan basofil sebagai reaksi umpan balik. Mediator-mediator ini merangsang Bergeraknya sel-sel polimorfonuklear (PMN) menuju lokasi masuknya antigen serta meningkatkan permeabilitas dinding vaskular yang menyebabkan eksudasi protein plasma dan cairan (Abbas *et al.*, 2015).

b. Sistem Imun Spesifik

Respon imun spesifik dapat dibagi menjadi tiga golongan :

1) Respon imun seluler

Hanya melibatkan jenis limfosit yang berdiferensiasi dibawah pengaruh sel T. Sel T terdiri dari beberapa subset sel dengan fungsi yang berlainan yaitu CD4 (Th1, Th2), CD8+ (CTL/Tc) dan Ts (sel Tr/ Th) (Bratawidjaya dan Rengganis, 2014).

2) Respon imun humoral

Dilaksanakan oleh sel B atau Limfosit B dan produk yang dihasilkan berupa antibodi dan berfungsi dalam pertahanan terhadap mikroba ekstraseluler. Sel B berasal dari sel asal multipoten di sumsum tulang. Sel B yang dirangsang oleh benda asingkan berpoliferasi, berdiferensiasi dan berkembang menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi. Antibodi yang dilepaskan dapat ditemukan di dalam serum (Kresno, 2001; Bratawidjaya dan Rengganis, 2014).

3) Interaksi antara respon imun selular dengan respon imun humoral, salah satu interaksi antara keduanya yaitu disebut dengan *antibody dependent cell mediated cytotoxicity* (ADCC). Sitolisis dapat terjadi bila dibantu oleh antibodi. Antibodi berfungsi melapisi antigen sasaran (opsonisasi) sehingga sel NK yang mempunyai reseptor terhadap fragmen Fc antibodi tersebut dapat melekat pada sel atau antigen sasaran. Pengikatan sel NK melalui reseptornya pada kompleks antigen-antibodi mengakibatkan sel NK dapat menghancurkan sel sasaran. Penghancuran sel sasaran itu terjadi melalui pelepasan berbagai enzim, sitolisin, *reactive oxygen intermediates* dan sitokin, langsung pada sel sasaran (Kresno, 2001).

2. Leukosit

Leukosit merupakan sel darah putih yang diproduksi oleh jaringan hemopoetik untuk jenis bergranula (polimorfonuklear) dan jaringan limpatik untuk jenis tak bergranula (mononuklear), berfungsi dalam sistem pertahanan tubuh terhadap infeksi. Berfungsi untuk melindungi tubuh dari infeksi. Karena itu, jumlah leukosit tersebut berubah-ubah dari waktu ke waktu, sesuai dengan jumlah benda asing yang dihadapi dalam batas-batas yang masih dapat ditoleransi tubuh tanpa menimbulkan gangguan fungsi. Meskipun leukosit merupakan sel darah, tapi fungsi leukosit lebih banyak dilakukan di dalam jaringan. Leukosit hanya bersifat sementara mengikuti aliran darah ke seluruh tubuh. Apabila terjadi peradangan pada jaringan tubuh leukosit akan pindah menuju jaringan yang mengalami radang dengan cara menembus dinding kapiler (Bratawidjaya & Rengganis, 2014; Kiswari, 2014).

Leukosit terdiri dari 2 kategori yaitu granulosit dan agranulosit:

- a. Granulosit, yaitu sel darah putih yang di dalam sitoplasmanya terdapat granulagranula. Granula-granula ini mempunyai perbedaan kemampuan mengikat warna misalnya pada eosinofil mempunyai granula berwarna merah terang, basofil berwarna biru dan neutrofil berwarna ungu pucat.
- b. Agranulosit, merupakan bagian dari sel darah putih dimana mempunyai inti sel satu lobus dan sitoplasmanya tidak bergranula. Leukosit yang termasuk agranulosit adalah limfosit, dan monosit. Limfosit terdiri dari limfosit B yang membentuk imunitas humoral dan limfosit T yang membentuk imunitas selular. Limfosit B memproduksi antibodi jika terdapat antigen, sedangkan limfosit T langsung berhubungan dengan benda asing untuk difagosit. Ada tidaknya granula dalam leukosit serta sifat dan reaksinya terhadap zat warna, merupakan ciri khas dari jenis leukosit. Selain bentuk dan ukuran, granula menjadi bagian penting dalam menentukan jenis leukosit. Dalam keadaan normal leukosit yang dapat dijumpai menurut ukuran yang telah dibakukan adalah basofil,

eosinofil, neutrofil batang, neutrofil segmen, limfosit dan monosit. Keenam jenis sel tersebut berbeda dalam ukuran, bentuk, inti, warna sitoplasma serta granula didalamnya (Bratawidjaya & Rengganis, 2014; Kiswari, 2014).

1) Limfosit

Didalam tubuh limfosit adalah jenis leukosit kedua paling banyak setelah neutrofil (20-40% dari total leukosit). Jumlah limfosit pada anak-anak relatif lebih banyak dibandingkan jumlah orang dewasa, dan jumlah limfosit ini akan meningkat bila terjadi infeksi virus. Berdasarkan fungsinya limfosit dibagi atas limfosit B dan limfosit T. Limfosit B matang pada sumsum tulang sedangkan limfosit T matang dalam timus. Keduanya tidak dapat dibedakan dalam pewarnaan Giemsa karena memiliki morfologi yang sama dengan bentuk bulat dengan ukuran 12 μm . Sitoplasma sedikit karena semua bagian sel hampir ditutupi nukleus padat dan tidak bergranula. Limfosit B berasal dari sel stem di dalam sumsum tulang dan tumbuh menjadi sel plasma, yang menghasilkan antibodi. Limfosit T terbentuk jika sel stem dari sumsum tulang pindah ke kelenjar thymus yang akan mengalami pembelahan dan pematangan. Di dalam kelenjar thymus, limfosit T belajar membedakan mana benda asing dan mana bukan benda asing. Limfosit T dewasa meninggalkan kelenjar thymus dan masuk ke dalam pembuluh getah bening dan berfungsi sebagai bagian dari sistem pengawasan kekebalan (Nugraha, 2015).

Berdasarkan ukurannya limfosit dibedakan menjadi beberapa jenis:

- *Resting lymphocyte*: biasanya berukuran kecil (7-10 μm), intinya berbentuk bulat atau oval.
- *Reactive (activical) lymphocyte* : berukuran paling besar bila terjadi infeksi misalnya mono nukleosis.

- *Large granula lymphocyte* : berukuran sedang mengandung granula kasar azurofilik, berperan sebagai sel natural killer (NK) imunologi. Ukuran sel limfosit beragam, ada yang seperti eritrosit dan ada yang sebesar netrofil. Limfosit dengan garis tengah 6-8 mikrometer dikenal sebagai limfosit kecil. Sitoplasma limfosit bersifat basa lemah dan berwarna biru muda pada sediaan yang terpulas. Sitoplasma ini mengandung granula azurofilik. Inti selnya kebanyakan bulat atau terkadang mirip ginjal. Kromatin inti amat padat dan berwarna biru gelap. Sel ini juga relatif sedikit dan berwarna biru langit tanpa granula spesifik, namun pada beberapa sel terlihat granula azurofil yang jika pulasannya baik berwarna ungu kemerahan (Kiswari, 2014).

2) Netrofil

Neutrofil berukuran sekitar 14 μm , granulanya berbentuk butiran halus tipis dengan sifat netral sehingga terjadi pencampuran warna asam (eosin) dan warna basa (metilen biru), sedang pada granula menghasilkan warna ungu atau merah muda yang samar (Nugraha, 2015). Neutrofil berfungsi sebagai garis pertahanan tubuh terhadap zat asing terutama terhadap bakteri. Bersifat fagosit dan dapat masuk ke dalam jaringan yang terinfeksi. Sirkulasi neutrofil dalam darah yaitu sekitar 10 jam dan dapat hidup selama 1-4 hari pada saat berada dalam jaringan ekstrasvaskuler. Neutrofil adalah jenis sel leukosit yang paling banyak yaitu sekitar 50-70% diantara sel leukosit yang lain. Ada dua macam netrofil yaitu neutrofil batang (stab) dan neutrofil segmen (polimorfonuklear) (Kiswari, 2014).

Perbedaan dari keduanya yaitu neutrofil batang merupakan bentuk muda dari neutrofil segmen sering disebut sebagai neutrofil tapal kuda karena mempunyai inti berbentuk seperti tapal kuda. Seiring dengan proses pematangan, bentuk intinya akan bersegmen dan akan

menjadi neutrofil segmen. Sel neutrofil mempunyai sitoplasma luas berwarna pink pucat dan granula halus berwarna ungu (Riswanto, 2013).

Neutrofil segmen mempunyai granula sitoplasma yang tampak tipis (pucat), sering juga disebut neutrofil polimorfonuklear karena intinya terdiri atas 2-5 segmen (lobus) yang bentuknya bermacam-macam dan dihubungkan dengan benang kromatin. Jumlah neutrofil segmen yaitu sebanyak 3-6, dan bila lebih dari 6 jumlahnya maka disebut dengan neutrofil hipersegmen (Kiswari, 2014).

Peningkatan jumlah neutrofil disebut neutrofilia. Neutrofilia dapat terjadi karena respon fisiologik terhadap stres, misalnya karena olah raga, cuaca yang ekstrim, perdarahan atau hemolisis akut, melahirkan, dan stres emosi akut. Keadaan patologis yang menyebabkan neutrofilia diantaranya infeksi akut, radang atau inflamasi, kerusakan jaringan, gangguan metabolik, apendisitis dan leukemia mielositik. Sedangkan penurunan jumlah neutrofil disebut dengan neutropenia, neutropenia ditemukan pada penyakit virus, hipersplenisme, leukemia, granulositosis, anemia, pengaruh obat-obatan (Riswanto, 2013).

3) Eosinofil

Eosinofil dalam tubuh yaitu sekitar 1-6 %, berukuran 16 μ m. Berfungsi sebagai fagositosis dan menghasilkan antibodi terhadap antigen yang dikeluarkan oleh parasit. Masa hidup eosinofil lebih lama dari neutrofil yaitu sekitar 8-12 jam (Kiswari, 2014). Eosinofil hampir sama dengan neutrofil tapi pada eosinofil, granula sitoplasma lebih kasar dan berwarna merah orange. Warna kemerahan disebabkan adanya senyawa protein kation (yang bersifat basa) mengikat zat warna golongan anilin asam seperti eosin, yang terdapat pada pewarnaan Giemsa. Granulanya sama besar dan teratur seperti gelembung dan jarang ditemukan lebih dari 3 lobus inti. Eosinofil

lebih lama dalam darah dibandingkan neutrofil (Hoffbrand & PAH, 2013).

Eosinofil akan meningkat jumlahnya ketika ditemukan penyakit alergi, penyakit parasitik, penyakit kulit, kanker, flebitis, tromboflebitis, leukemia mielositik kronik (CML), emfisema dan penyakit ginjal. Sedangkan pada orang stres, pemberian steroid per oral atau injeksi, luka bakar, syok dan hiperfungsiadrenokortikal akan ditemukan jumlah eosinofil yang menurun (Riswanto, 2013)

4) Monosit

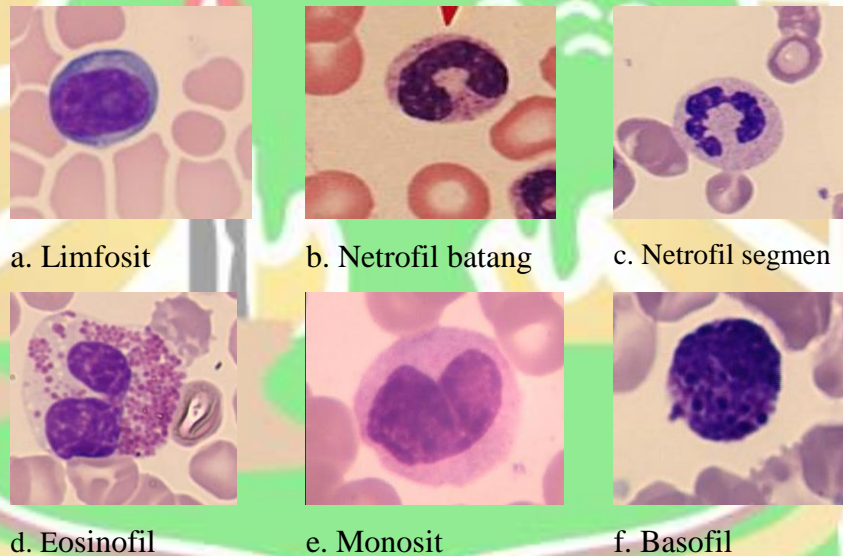
Jumlah monosit kira-kira 3-8% dari total jumlah leukosit. Monosit memiliki dua fungsi yaitu sebagai fagosit mikroorganisme (khususnya jamur dan bakteri) serta berperan dalam reaksi imun (Kiswari, 2014). Monosit merupakan sel leukosit yang memiliki ukuran paling besar yaitu sekitar 18 μm , berinti padat dan melekuk seperti ginjal atau biji kacang, sitoplasma tidak mengandung granula dengan masa hidup 20-40 jam dalam sirkulasi. Inti biasanya eksentris, adanya lekukan yang dalam berbentuk tapal kuda. Granula azurofil, merupakan lisosom primer, lebih banyak tapi lebih kecil. Ditemui retikulum endoplasma sedikit. Juga ribosom, pliribosom sedikit, banyak mitokondria. Aparatus Golgi berkembang dengan baik, ditemukan mikrofilamen dan mikrotubulus pada daerah identasi inti. Monosit terdapat dalam darah, jaringan ikat dan rongga tubuh. Monosit tergolong fagositik mononuclear (*system retikuloendotel*) dan mempunyai tempat-tempat reseptor pada permukaan membrannya (Hoffbrand & PAH, 2013).

5) Basofil

Basofil merupakan salah satu jenis leukosit yang paling sedikit jumlahnya yaitu kira-kira kurang dari 2% dari jumlah keseluruhan leukosit. Sel ini memiliki ukuran sekitar 14 μm , granula memiliki

ukuran bervariasi dengan susunan tidak teratur hingga menutupi nukleus dan bersifat azrofilik sehingga berwarna gelap jika dilakukan pewarnaan. Basofil memiliki granula kasar berwarna ungu atau biru tua dan seringkali menutupi inti sel, dan bersegmen. Warna kebiruan disebabkan karena banyaknya granula yang berisi histamin, yaitu suatu senyawa amina biogenik yang merupakan metabolit dari asam amino histidin. Basofil jarang ditemukan dalam darah normal. Selama proses peradangan akan menghasilkan senyawa kimia berupa heparin, histamin, beradikinin dan serotonin. Basofil berperan dalam reaksi hipersensitifitas yang berhubungan IgE (Kiswari, 2014).

Gambar diferensial sel leukosit dapat dilihat dibawah ini:



Gambar 2. Diferensial sel leukosit (Stevens & Christine, 2003)

3. Antibodi

Antibodi disebut juga dengan immunoglobulin (Ig) atau gamma globulin, atau protein yang diproduksi oleh sel plasma untuk menanggapi antigen asing. Ketika limfosit B dirangsang oleh antigen dan menjalani diferensiasi, maka produk akhir adalah antibodi atau imunoglobulin.

Imunoglobulin adalah glikoprotein yang ditemukan didalam serum darah (Stevens & Christine, 2003).

Immunoglobulin merupakan substansi pertama yang diidentifikasi sebagai molekul dalam serum yang mampu menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi. Molekul ini disintesis oleh sel B dalam dua bentuk yaitu sebagai reseptor permukaan (untuk mengikat antigen) dan sebagai antibodi yang disekresikan ke dalam cairan estraseluler. Hingga sekarang dikenal 5 kelas utama imunoglobulin dalam serum manusia yaitu IgG, IgA, IgM, IgE dan IgM (Kresno, 2001).

a. Immunoglobulin G (IgG)

Immunoglobulin G (IgG) merupakan komponen utama imunoglobulin didalam tubuh manusia, sekitar 75-80 % dari total semua immunogloblin. IgG memiliki waktu hidup terlama di antara imunoglobulin yang lain, sekitar 23-25 hari. Immunoglobulin G dapat menembus jaringan plasenta dan masuk kedalam peredaran darah fetus sehingga pada bayi yang baru lahir IgG yang berasal dari ibunya yang melindungi bayi dari infeksi (Stevens & Christine, 2003)..

Dalam sistem kekebalan tubuh IgG bekerja dengan cara melapisi mikroorganisme sehingga partikel mudah untuk difagositosis dan dapat menetralkan toksin dan virus (Subowo, 2010).

b. Immunoglobulin A (IgA)

Immunoglobulin A (IgA) ditemukan didalam tubuh pada saluran pernafasan, saluran cerna (mukosa usus), urogenital, air mata, air ludah, keringat dan susu (Stevens & Christine, 2003).

Fungsi utama dari sekresi IgA adalah sebagai pertahanan pertama terhadap permukaan mukosa dimana berperan penting untuk menetralkan racun yang dihasilkan oleh mikroorganisme, dan juga membantu untuk mencegah pelekatan bakteri pada permukaan mukosa (Stevens & Christine, 2003).

c. Immunoglobulin M (IgM)

Immunoglobulin M (IgM) dikenal sebagai makroglobulin. IgM memiliki waktu hidup sekitar 10 hari, jauh lebih pendek dari pada IgG. Karena IgM memiliki ukuran yang besar, IgM ditemukan di cairan intravaskular dan tidak ditemukan di jaringan serta di cairan tubuh lainnya (Stevens & Christine, 2003).

Immunoglobulin M adalah antibodi pertama yang dibentuk dalam respon imun. IgM dapat mencegah gerakan mikroorganisme patogen, memudahkan fagositosis, dan merupakan yang dahulu dibentuk pada respon primer karena IgM merupakan petunjuk adanya infeksi dini (Baratawidjaya & Rengganis, 2014).

d. Immunoglobulin E (IgE)

Immunoglobulin E sangat sedikit ditemukan dalam serum, hanya sekitar 0.004 % dari total serum immunoglobulin (Stevens & Christine, 2003).

Immunoglobulin E sangat berperan dalam reaksi alergi, dimana ia mempunyai kemampuan untuk melekat pada sel mastosit dan basofil melalui reseptor. Bila sel yang dilapisi IgE terpapar antigen maka sel tersebut akan melepaskan mediator-mediator histamin yang menimbulkan gejala-gejala alergi (Baratawidjaya & Rengganis, 2014).

e. Immunoglobulin D (IgD)

Immunoglobulin D tidak ditemukan hingga tahun 1965 dan keberadaannya sangat langka didalam serum, kurang dari 0.2 % dari total serum immunoglobulin. Hal ini disintesis pada tingkat rendah dan lama umur hidupnya hanya sekitar 2-3 hari (Stevens & Christine, 2003).

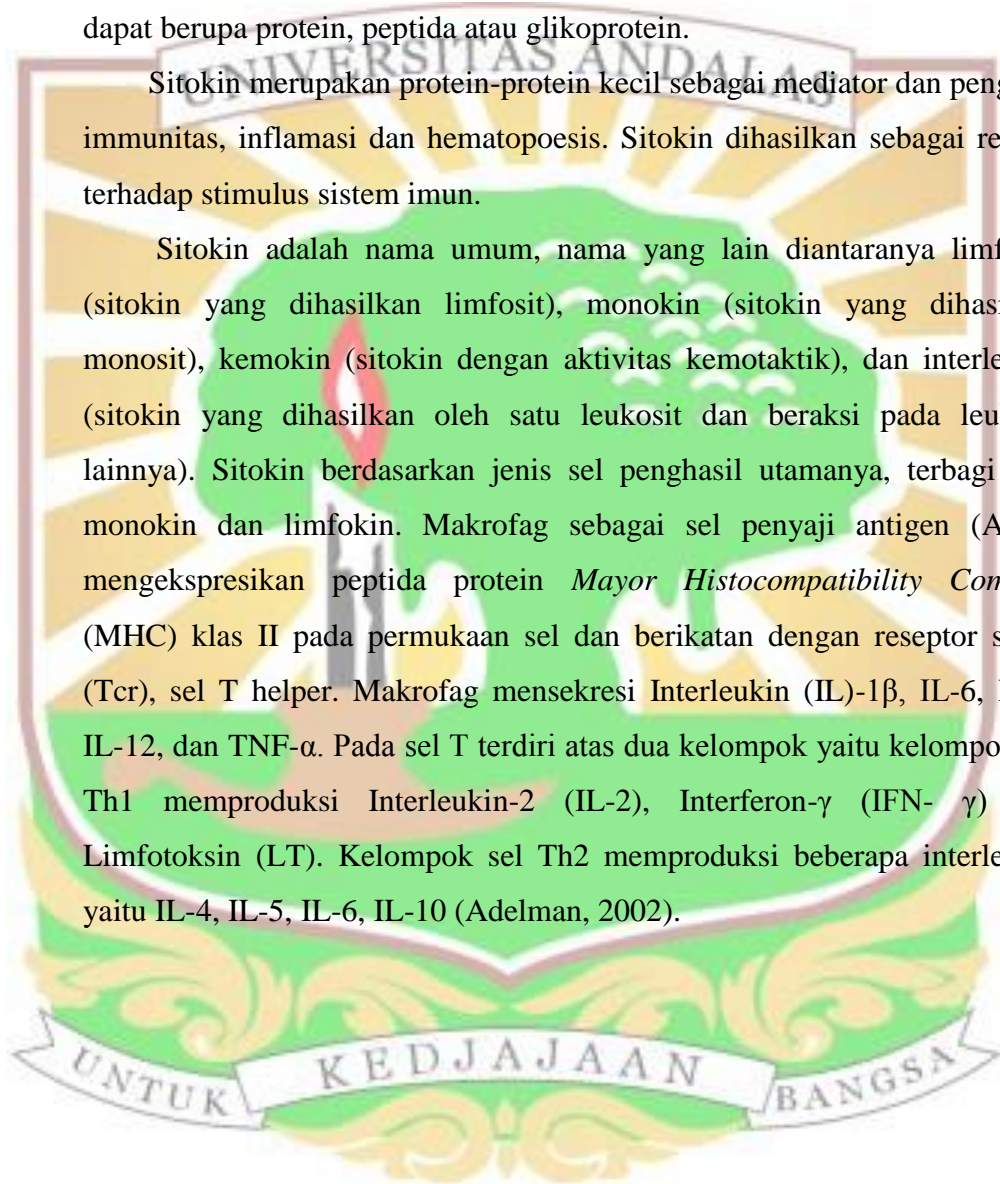
Immunoglobulin D dapat dijumpai pada permukaan sel B, terutama pada sel B neonatus dalam jumlah jauh lebih banyak dibandingkan konsentrasinya dalam serum (Kresno, 2001).

4. Sitokin

Sitokin berasal dari bahasa Yunani *cyto* yang berarti sel dan *kinos* (yaitu gerakan). Sitokin adalah senyawa organik hasil sekresi sel yang berpengaruh pada sel lain atau berfungsi sebagai sinyal komunikasi. Sitokin dapat berupa protein, peptida atau glikoprotein.

Sitokin merupakan protein-protein kecil sebagai mediator dan pengatur immunitas, inflamasi dan hematopoiesis. Sitokin dihasilkan sebagai respon terhadap stimulus sistem imun.

Sitokin adalah nama umum, nama yang lain diantaranya limfokin (sitokin yang dihasilkan limfosit), monokin (sitokin yang dihasilkan monosit), kemokin (sitokin dengan aktivitas kemotaktik), dan interleukin (sitokin yang dihasilkan oleh satu leukosit dan beraksi pada leukosit lainnya). Sitokin berdasarkan jenis sel penghasil utamanya, terbagi atas monokin dan limfokin. Makrofag sebagai sel penyaji antigen (APC), mengekspresikan peptida protein *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II pada permukaan sel dan berikatan dengan reseptor sel T (Tcr), sel T helper. Makrofag mensekresi Interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, dan TNF- α . Pada sel T terdiri atas dua kelompok yaitu kelompok sel Th1 memproduksi Interleukin-2 (IL-2), Interferon- γ (IFN- γ) dan Limfotoksin (LT). Kelompok sel Th2 memproduksi beberapa interleukin yaitu IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 (Adelman, 2002).



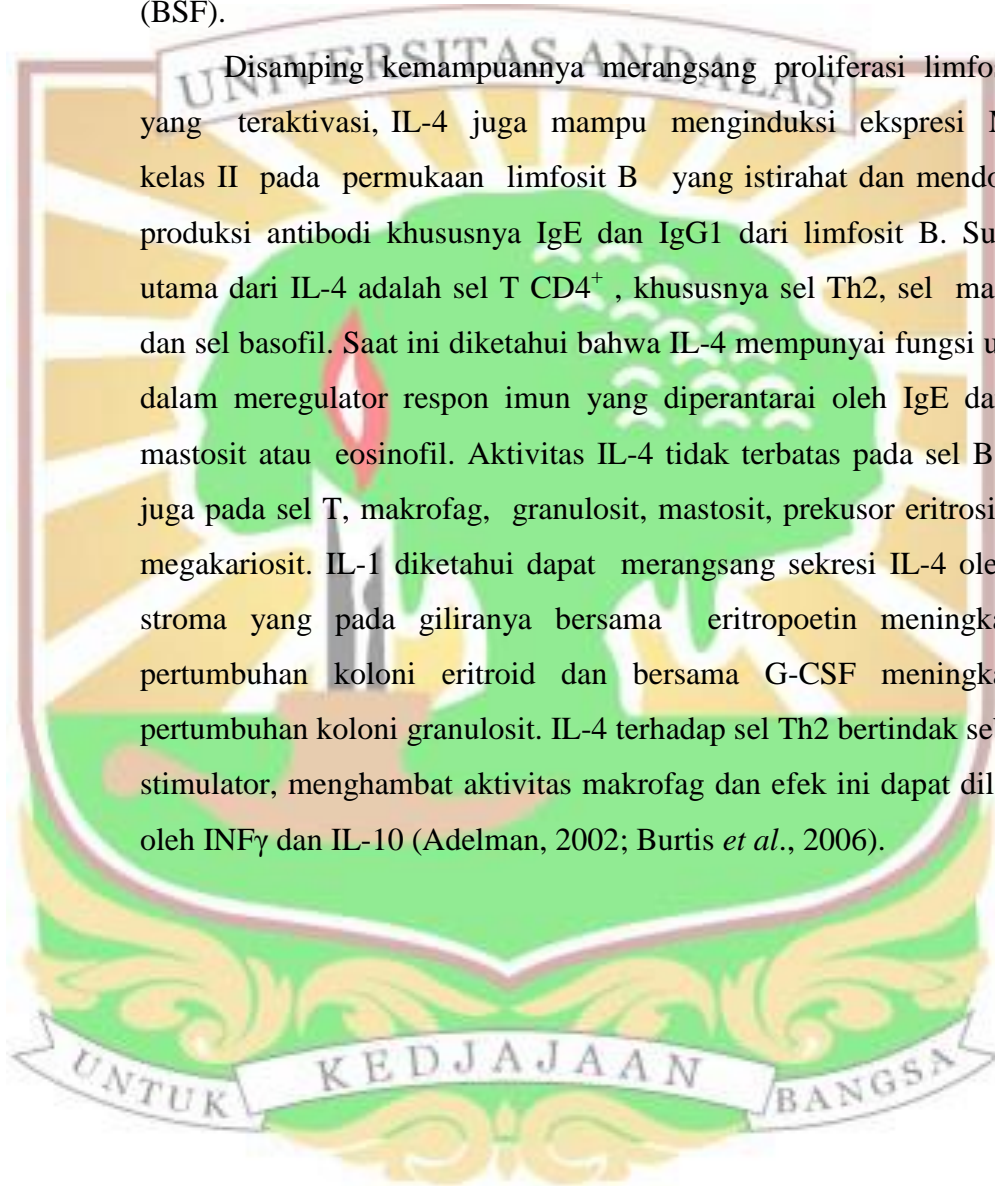
Tabel 1. Jenis jenis sitokin (Adelman, 2002).

Sitokin	Sel penghasil	Sel target	Fungsi
GM-CSF	Sel Th	Sel-sel progenator	Pertumbuhan dan differensiasi monosit dan DC
IL-1 α IL-1 β	Monosit	Sel – sel Th	co-stimulasi
	Makrofag Sel – sel B DC	Sel – sel B Sel – sel NK	Maturasi dan proliferasi Aktivasi
		Bervariasi	Inflamasi, fase respon akut, demam
IL-2	Sel-sel Th1	Pengaktifan sel T dan B, sel-sel NK	Pertumbuhan, proliferasi, aktivasi
IL-3	Sel-sel Th	Sel pokok	Pertumbuhan dan differensiasi
	Sel-sel NK	Sel mast	Pertumbuhan & pelepasan Histamin
IL-4	Sel-sel Th2	Pengaktifan Sel B	Proliferasi dan differensiasi IgG1 dan sintesis IgE
		Makrofag	MHC klas II
		Sel-sel T	Proliferasi
IL-5	Sel-sel Th2	Pengaktifan sel B	Proliferasi dan differensiasi sintesis
	Monosit	Pengaktifan sel B	Differensiasi sel plasma
		Sel plasma	Sekresi antibodi
		Sel pokok	Differensiasi
		Bervariasi	Respon fase akut
IL-7	Stroma	Sel pokok	Differensiasi kedalam progenitor
IL-8	Makrofag	Neutrofil-neutrofil	Kemotaksis
IL-10	Sel-sel Th2	Makrofag	Produksi sitokin
		Sel-sel B	Aktivasi
IL-12	Makrofag	Pengaktifan sel-sel	Differansiasi CTL (dengan IL-2)
		Sel-sel NK	Pengaktifan
IFN- α	Leukosit	Bervariasi	Replikasi virus, ekspresi MCH I
IFN- β	Fibroblas	Bervariasi	Replikasi virus, ekspresi MCH I
		Bervariasi	Replikasi virus
		Makrofag	Respon MHC
		Pengaktifan sel B	Perubahan Ig menjadi IgG2a
		Sel-sel Th	Proliferasi
		Makrofag	Eliminasi patogen
MIP-1 α	Makrofag	Monosit, sel-sel T	Kemotaksis
MIP-1 β	Limfosit	Monosit, sel-sel T	Kemotaksis
		Monosit, Makrofag	Kemotaksis
		Pengaktifan Makrofag	Sintesis IL-1
		Pengaktifan sel B	Sintesis IgA
		Bervariasi	Proliferasi

a. Interleukin 4 (IL-4)

Interleukin ini dihasilkan oleh sel T, mastosit, sel basofil dan sel eosinofil dengan fungsi utama memicu proliferasi limfosit B, sehingga pada awalnya sitokin ini disebut dengan B cell stimulating factor (BSF).

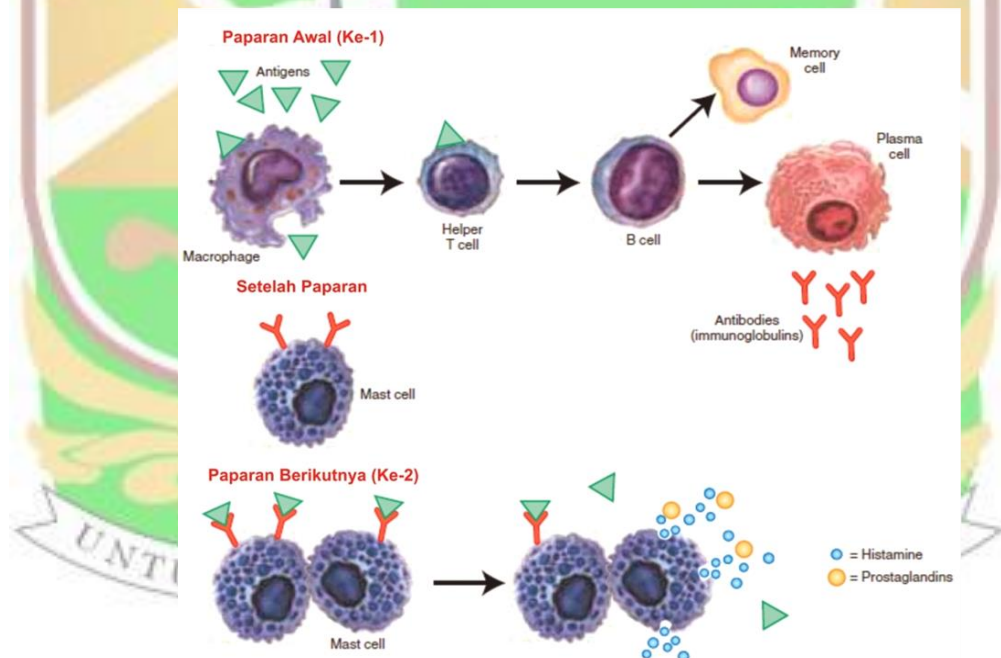
Disamping kemampuannya merangsang proliferasi limfosit B yang teraktivasi, IL-4 juga mampu menginduksi ekspresi MHC kelas II pada permukaan limfosit B yang istirahat dan mendorong produksi antibodi khususnya IgE dan IgG1 dari limfosit B. Sumber utama dari IL-4 adalah sel T CD4⁺, khususnya sel Th2, sel mastosit dan sel basofil. Saat ini diketahui bahwa IL-4 mempunyai fungsi utama dalam meregulator respon imun yang diperantarai oleh IgE dan sel mastosit atau eosinofil. Aktivitas IL-4 tidak terbatas pada sel B, tapi juga pada sel T, makrofag, granulosit, mastosit, prekursor eritrosit dan megakariosit. IL-1 diketahui dapat merangsang sekresi IL-4 oleh sel stroma yang pada gilirannya bersama eritropoetin meningkatkan pertumbuhan koloni eritroid dan bersama G-CSF meningkatkan pertumbuhan koloni granulosit. IL-4 terhadap sel Th2 bertindak sebagai stimulator, menghambat aktivitas makrofag dan efek ini dapat dilawan oleh INF γ dan IL-10 (Adelman, 2002; Burtis *et al.*, 2006).



5. Reaksi Hipersensitivitas

a. Reaksi hipersensitivitas tipe I (reaksi cepat atau anafilaksis)

Reaksi hipersensitivitas tipe satu dikenal dengan reaksi hipersensitivitas cepat atau anafilaksis atau reaksi alergi. Bila antigen, khususnya alergen, berikatan dengan molekul IgE yang sebelumnya telah melekat pada permukaan mastosit dan basofil, maka hal itu akan menyebabkan dilepaskannya berbagai mediator oleh mastosit dan basofil yang secara kolektif mengakibatkan peningkatan permeabilitas kapiler, vasodilatasi, kontraksi otot polos bronkus dan saluran cerna serta inflamasi lokal, reaksi ini disebut reaksi hipersensitivitas tipe segera atau cepat karena terjadi sangat cepat, hanya beberapa menit setelah paparan (Stevens & Christine, 2003). Reaksi hipersensitivitas tipe I dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.



Gambar 3. Hipersensitivitas tipe I (Stevens & Christine, 2003)

- b. Reaksi hipersensitivitas tipe II (Sitotoksitas yang memerlukan bantuan antibodi)

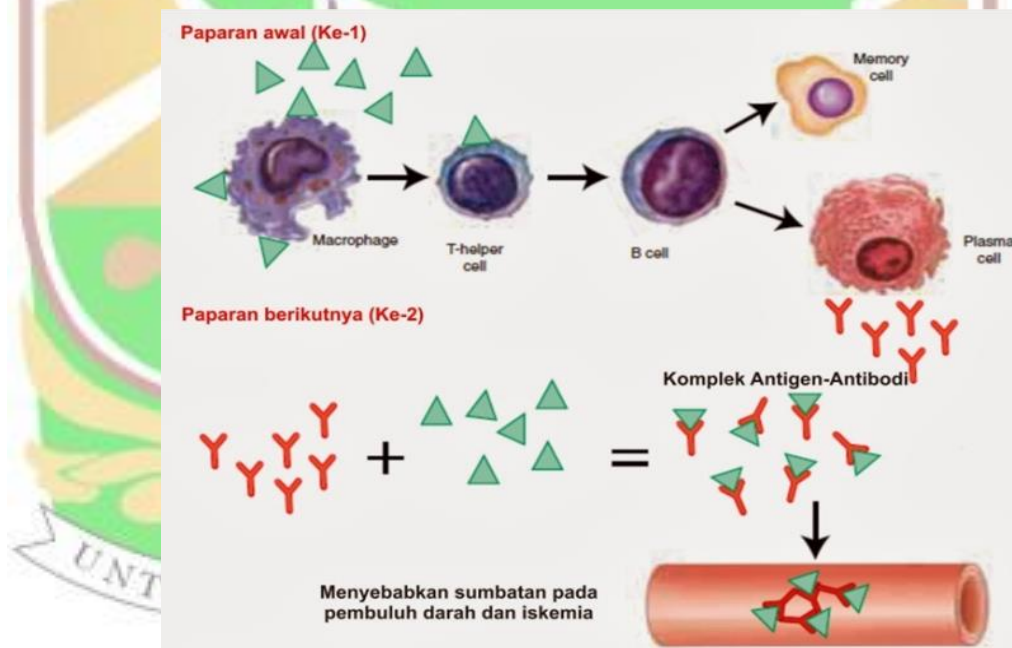
Pada reaksi tipe II, antibodi dalam serum bereaksi dengan antigen yang berada pada permukaan suatu sel atau yang merupakan komponen membran sel tertentu yang menampilkan antigen bersangkutan. Sering kali suatu substansi berupa mikroba dan molekul molekul kecil lainnya atau haptan, melekat pada permukaan sel dan bersifat antigen. Pada umumnya antibodi yang ditunjukkan kepada antigen permukaan sel yang bersifat patogenik, karena kompleks antigen-antibodi pada permukaan sel sasaran akan dihancurkan oleh sel efektor, misalnya oleh makrofag maupun oleh neutrofil dan monosit atau limfosit T-sitotoksik dan sel NK sehingga ada kemungkinan menyebabkan kerusakan sel itu sendiri (Stevens & Christine, 2003). Reaksi hipersensitivitas tipe II dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.



Gambar 4. Hipersensitivitas tipe II (Stevens & Christine, 2003)

c. Reaksi hipersensitivitas tipe III (Kompleks Imun)

Reaksi hipersensitivitas tipe III meliputi pembentukan kompleks imun oleh antigen dan antibodi, biasanya dari tipe IgG. Pasien disensitisasi (dirangsang) dengan paparan awal antigen, dan paparan selanjutnya (Ke-2) yang menyebabkan reaksi hipersensitivitas mulai terjadi. Reaksinya bersifat lokal dan berkembang dalam beberapa jam, dengan rentang gejala dari merah, edema lesi kulit hingga perdarahan, dan nekrosis. Proses meliputi pembentukan kompleks antigen-antibodi didalam pembuluh darah karena antigen diserap (absorpsi) melalui dinding pembuluh. Menarik neutrofil untuk datang dan membebaskan enzim yang mengakibatkan kerusakan pembuluh darah (Stevens & Christine, 2003). Reaksi hipersensitivitas tipe III dapat dilihat Gambar dibawah ini.



Gambar 5. Hipersensitivitas tipe III (Stevens & Christine, 2003)

d. Reaksi hipersensitivitas tipe lambat (tipe IV)

Reaksi tipe IV berbeda dengan reaksi-reaksi tipe I, II dan sel III karena reaksi ini tidak melibatkan antibodi tetapi melibatkan sel-sel limfosit T. Reaksi ini merupakan reaksi tuberculin yang timbul lebih dari 24 jam setelah tubuh terpapar dengan antigen tertentu. Reaksi ini diawasi dengan sensitasi oleh antigen yang direspon oleh sel T dengan melepaskan limfokiin antara lain *magrofage inhibitor factor* (MIF) dan *Magrofage activation factor* (MAF). Makrofag yang diaktifkan menimbulkan kerusakan jaringan (Stevens & Christine, 2003). Reaksi hipersensitivitas tipe IV dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.



Gambar 6. Hipersensitivitas tipe IV (Stevens & Christine, 2003)

6. Obat Obat Alergi Untuk Mengatasi Alergi

Obat obat alergi yang digunakan untuk mengatasi reaksi anafilaksis (Katzung, 2011):

a. Antihistamin

Antihistamin merupakan senyawa kimia yang bekerja sebagai antagonis kompetitif histamin pada reseptor dipermukaan sel. Antihistamin H1 merupakan obat yang digunakan untuk mengobati gejala gejala alergi. Berdasarkan struktur kimia antihistamin H1 digolongkan menjadi:

1. Golongan etanolamin yaitu difenhidramin
2. Golongan etilendiamin yaitu tripenalamin, antazolin, dan mepiramin
3. Golongan propilamin yaitu feniramin
4. Golongan piperizin yaitu klorciklizin dan hidroksizin
5. Turunan fenotiazin yaitu prometazin dan metilazin

b. Kortikosteroid

Kortikosteroid merupakan obat yang banyak digunakan pada penyakit radang dan imunologik. Kortikosteroid bekerja dengan cara menekan sistem daya tahan tubuh sehingga sistem imun ini tidak bereaksi kepada alergen (bahan penyebab alergi).

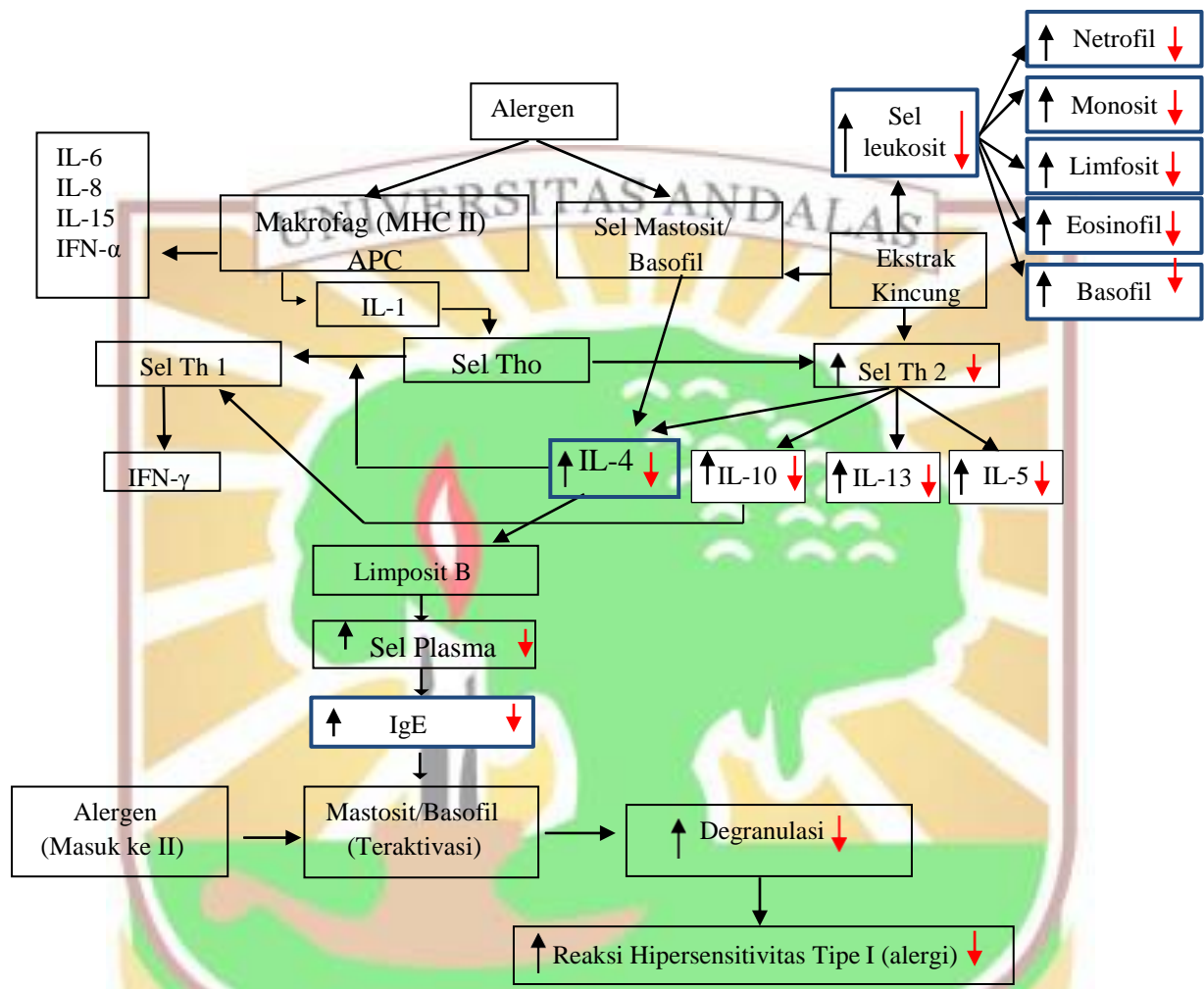
c. Adrenalin

Adrenalin merupakan golongan adrenergik yang dapat meningkatkan konsentrasi cAMP dalam mastosit sehingga terjadi hambatan degranulasi sel mastosit akibatnya sel mastosit tidak dapat dilepaskan.

d. Teofilin

Teofilin termasuk dalam golongan xantin yang mempunyai khasiat mengatasi jeratan anafilaksis. Mekanisme kerjanya melalui penghambatan kerja enzim fosfodiesterase yang akan merusak cAMP, sehingga cAMP meningkat kadarnya, akibatnya degranulasi mastosit dihambat.

C. Kerangka Konsep



Keterangan: yang diteliti.

Gambar 7. Kerangka konseptual



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Serologi Imunologi, Laboratorium Central, Laboratorium Analisis Fisiko Kimia, Laboratorium Biomedik Kedokteran yang dimulai pada bulan April sampai Oktober 2019.

B. Metode Penelitian

Metode penelitian ini bersifat eksperimental, rancangan percobaan yang dilakukan adalah:

1. Ekstraksi bunga kincung
2. Standarisasi ekstrak bunga kincung
3. Penentuan dosis
4. Penyiapan hewan percobaan
5. Pembuatan suspensi senyawa uji
6. Pemberian senyawa uji
7. Perlakuan terhadap hewan percobaan
8. Analisis data

1. Persiapan Alat Dan Bahan

1) Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah Evaporator (Buchi R-210 Rotavapor), UV-vis spectrophotometer (Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis), UV-lamp (Camag), beaker glass (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), labu ukur (Pyrex), pipet volume (Pyrex), timbangan analitik digital, Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck), deksikator, spatel, botol gelap, bejana KLT, sentrifuge, lumpang dan mortir, alat sonde, alat bedah,

kertas saring, kandang hewan, oven, haemocytometer, spektrofotometer BIO-RAD, krus, tabung reaksi, pipet tetes, mikroskop.

2) Bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan adalah bunga kincung, aquadest, natrium CMC, etanol 70 %, etanol P, NaCl fisiologis 0,9 %, Putih telur ayam ras, etil asetat, asam format, rutin, silica gel 60 F₂₅₄, reagen Mayer, reagen Dragendorf, HCl, logam Mg, FeCl₃, HgCl₂, AlCl₃, natrium asetat, kit Mouse IgE dan IL-4 Platinum ELISA, pewarna Geimsa dan Wright stain, EDTA.

2. Prosedur Kerja

1) Tempat pengambilan sampel

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah bunga kincung yang diambil di Teluk Bayur Jalan Raya Padang-Painan Kota Padang.

2) Identifikasi tumbuhan

Identifikasi tumbuhan yang diambil adalah tumbuhan utuh dari akar sampai bunga kincung. Identifikasi kincung dilakukan di Herbarium ANDA, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Andalas (UNAND) Padang, Sumatera Barat.

3) Proses pembuatan simplisia

Pada umumnya proses pembuatan simplisia melalui tahapan sebagai berikut, pengumpulan tanaman, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penyimpanan (Departemen Kesehatan, 1985).

i. Pengumpulan sampel

Bagian yang diambil adalah bunga kincung yang dipetik langsung dari batangnya. Pengambilan dilakukan secara manual dipetik dengan tangan satu persatu.

ii. Sortasi basah

Dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bunga kincung sebelum pencucian dengan cara membuang bagian-bagian yang tidak perlu sebelum pengeringan, sehingga didapatkan simplisia yang layak untuk digunakan.

iii. Pencucian

Dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Pencucian dilakukan sesingkat mungkin agar tidak menghilangkan zat berkhasiat dari simplisia tersebut.

iv. Perajangan

Perajangan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan dan penggilingan, bunga kincung dirajang. Perajangan dilakukan dengan pisau sehingga diperoleh potongan dengan ukuran 0,5-1 cm.

v. Pengeringan

Bunga kincung yang sudah dirajang kemudian dikeringkan, sampai memenuhi kadar susut pengeringan yang tidak lebih dari 15%, pengeringan dilakukan di tempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung.

vi. Sortasi kering

Untuk memisahkan bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor-pengotor lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.

vii. Penyiapan serbuk simplisia

Setelah diperoleh simplisia kering maka dilanjutkan dengan penghalusan, penghalusan dilakukan dengan cara diblender sehingga diperoleh serbuk bunga kincung. Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, simplisia harus dalam bentuk

serbuk dengan derajat halus nomor 8 (Departemen Kesehatan, 2011).

4) Pembuatan ekstrak bunga kincung

Dibuat ekstrak dari serbuk kering simplisia dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Dimasukkan satu bagian serbuk kering simplisia ke dalam maserator, ditambahkan 10 bagian pelarut. Direndam selama 6 jam pertama sambil sekali-kali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Proses penyaringan diulangi sekurang-kurangnya dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Dikumpulkan semua maserat, kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Dihitung rendemen yang diperoleh yaitu persentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot rajang simplisia daun kincung yang digunakan dengan penimbang. Rendemen harus mencapai angka sekurang-kurangnya sebagaimana ditetapkan pada masing-masing monografi ekstrak (Departemen Kesehatan, 2008).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

5) Standarisasi ekstrak (Departemen Kesehatan RI, 2000)

a) Karakteristik non-spesifik

i. Susut pengeringan

Botol ditimbang dipanaskan pada suhu 105⁰C selama 30 menit dan ditara. Sebelum ditimbang ekstrak diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol timbang hingga terdapat lapisan setebal lebih kurang 5-10 mm. Ekstrak ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukan kedalam botol timbang tersebut. Kemudian dipanaskan dalam oven, dalam keadaan tutup terbuka pada suhu 105⁰C selama 30 menit, dan diulangi hingga bobot tetap. Sebelum setiap penimbangan hasil pengeringan, biarkan botol timbang dalam keadaan

tertutup mendingin dalam desikator hingga suhu kamar. Timbang hingga bobot tetap. Hasil penimbangan dicatat dan dihitung susut pengeringannya dengan persamaan dibawah ini:

$$\text{Susut pengeringan: } \frac{(w_1 - w_0) - (w_2 - w_0)}{w_1 - w_0} \times 100\%$$

Keterangan: W0 = botol timbang

W1 = botol timbang + ekstrak

W2 = botol timbang + hasil pengeringan

ii. Penetapan kadar abu total

Sebanyak 2 gram ekstrak dimasukkan kedalam krus yang telah dipijarkan dan ditara, ratakan. Pijarkan perlahan lahan hingga arang habis , didinginkan, dan ditimbang. Jika arang tidak dapat hilang, maka tambahkan air panas, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa kertas saring dalam krus yang sama. Masukkan filtrat ke dalam krus, uapkan, pijarkan hingga bobot tetap, lalu timbang. Hitung kadar abu terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara, dengan persamaan berikut:

$$\text{Kadar abu: } \frac{w_2 - w_0}{w_1 - w_0} \times 100\%$$

Keterangan: W0 = berat krus kosong

W1 = berat krus + ekstrak

W2 = berat krus + hasil pengeringan

iii. Penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 mL asam sulfat encer selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, saring melalui kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas, pijarkan hingga bobot tetap, timbang. Hitung kadar abu yang tidak larut dalam asam terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara.

$$\text{Kadar abu yang tidak larut asam} = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

Keterangan: W_0 = berat krus kosong

W_1 = berat krus + ekstrak

W_2 = berat krus + hasil pengeringan

b) Karakteristik spesifik (Departemen Kesehatan, 2000)

i. Uji organoleptis

Ekstrak yang diperoleh diuji secara organoleptis menggunakan pengamatan panca indra yang menyatakan bentuk, warna, rasa dan bau dari ekstrak.

ii. Parameter identitas

Ekstrak yang diperoleh memiliki Parameter identitas yaitu: deskripsi tata nama dan senyawa identitas. Deskripsi tata nama tanaman meliputi nama ekstrak, nama latin tanaman (sistematika botani), bagian tanaman yang digunakan (rimpang, daun, bunga dan sebagainya) dan nama tanaman Indonesia serta ekstrak yang mempunyai senyawa identitas (Departemen Kesehatan, 2000).

iii. Uji kandungan kimia ekstrak

a) Uji fitokimia (Departemen Kesehatan, 2000)

1. Alkaloid

Ekstrak 500 mg, tambahkan 1 mL HCl 2 N dan 9 mL air lalu panaskan diatas penangas air selama 2 menit, dinginkan dan saring. Masukkan 3 tetes filtrat kedalam tabung reaksi, tambahkan 2-3 tetes reagen Mayer terbentuk endapan berwarna putih. Jika dengan reagen Dragendorf akan terbentuk endapan jingga kecoklatan.

2. Flavonoid

Ekstrak 50 mg dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL etanol. Setelah itu ditambahkan 100 mg logam Mg atau serbuk Magnesium P dan 10 tetes HCl P, jika terbentuk warna merah jingga sampai merah ungu maka reaksi ini menunjukkan adanya flavon, auron dan menunjukkan ekstrak mengandung flavonoid.

3. Fenolik

Ekstrak 50 mg dimasukkan dalam tabung reaksi, tambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 5%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau hijau biru

4. Saponin

Ekstrak 500 mg serbuk yang diperiksa ke dalam tabung reaksi, tambahkan 10 mL air panas, dinginkan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1-10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang

5. Steroid dan terpenoid

Ekstrak 50 mg dimasukan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform lalu ditambahkan dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambahkan dengan 1-2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi. Hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada pembatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau

kebiruan menunjukkan adanya steroid. Reaksi ini menunjukkan ekstrak mengandung steroid.

b) Pola kromatografi (Departemen Kesehatan, 2011)

1. Penjenuhan bejana

Kertas saring ditempatkan di dalam bejana kromatografi. Tinggi kertas saring dan lebarnya sama dengan lebar bejana. Masukkan sejumlah larutan fase gerak ke dalam bejana kromatografi yaitu etil asetat P, asam format P dan air (100: 15:17) . Tutup kedap dan biarkan hingga kertas saring basah seluruhnya. Kertas saring harus selalu tercelup ke dalam larutan fase gerak pada dasar bejana.

2. Penyiapan larutan uji

Sejumlah 0,5 g ekstrak bunga kincung dilarutkan di dalam labu 10 mL dan tambahkan metanol P lalu diamkan selama 10 menit, kemudian disaring.

3. Penyiapan larutan pembanding

Timbang 50 mg rutin lalu larutkan di dalam labu 5 mL dan tambahkan etanol P sampai tanda batas lalu diamkan selama 10 menit.

4. Kromatografi lapis tipis (KLT)

Larutan uji dan larutan pembanding ditotolkan dengan jarak antara 1 cm dari tepi bawah, dan dibiarkan mengering. Lalu lempeng dimasukkan ke dalam bejana kromatografi. Larutan fase gerak dalam bejana harus mencapai tepi bawah lapisan penyerap, totolan jangan sampai terendam. Tutup bejana diletakkan pada tempatnya dan biarkan sistem hingga fase gerak merambat sampai batas jarak rambat. Lempeng dikeluarkan dan dikeringkan di udara, dan

bercak diamati dengan sinar tampak, ultraviolet gelombang pendek (254nm). Diukur dan dicatat tiap-tiap bercak yang diamati dan tentukan harga R_f (Departemen Kesehatan, 2011).

c) Penetapan kadar flavonoid total (Departemen Kesehatan, 2011)

1. Larutan uji untuk ekstrak

Timbang seksama 0,1-1 g ekstrak, larutkan dalam 10 mL etanol 80 %, sentrifus 1000 rpm selama 10 menit. Masukkan beningan kedalam labu terukur 25 mL, ekstraksi residu dua kali, tiap kali dengan 5 mL etanol 80 %. Kumpulkan beningan ke dalam labu terukur yang sama, tambahkan etanol 80 % sampai tanda batas.

2. Larutan pembanding

Timbang seksama kurang lebih 10 mg pembanding, larutkan dalam etanol 80 %, encerkan secara kuantitatif dengan etanol 80 %.

3. Pengukuran

Pipet secara terpisah 0,5 mL larutan uji dan larutan pembanding, tambahkan pada masing masing 1,5 mL etanol P, 0,1 mL $AlCl_3$ 10 %, 0,1 mL Na asetat 1 M dan 2,8 mL air suling. Kocok dan diamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum.

3. Perencanaan Dosis

Menggunakan 3 varian dosis ekstrak bunga kicung yaitu 100 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB (Aldi *et al.*, 2017).

4. Persiapan Hewan Percobaan

Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan umur 8-12 minggu dengan berat antara 20-30 gram sebanyak 25 ekor. Sebelum diperlakukan mencit diaklimatisasi selama 7 hari dengan diberi makan dan minum yang cukup. Hal ini bertujuan untuk penyesuaian lingkungan, mengontrol kesehatan dan berat badan. Hewan yang digunakan adalah mencit yang sehat yakni berat badan selama diaklimatisasi tidak mengalami perubahan lebih dari 10% dan secara visual menunjukkan perilaku yang normal (Vogel, 2002).

5. Pembuatan Sediaan

1) Suspensi ekstrak kincung

Ekstrak disuspensikan dalam Na CMC 0,5%. Na CMC ditimbang sebanyak 500 mg lalu masukan dalam lumpang yang sudah terdapat air panas sebanyak 10 mL didalamnya, gerus hingga homogen lalu cukupkan aquadest hingga 100 mL. Larutkan ekstrak dengan larutan Na.CMC dengan konsentrasi yang telah ditentukan.

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{dosis} \times \text{berat}}{\text{VAO (volume administrasi)}}$$

2) Pembuatan larutan antigen

Sebagai antigen digunakan putih telur ayam ras atau albumin 20% v/v yang dilarutkan dalam NaCl fisiologis.

6. Perlakuan Terhadap Hewan Percobaan

Mencit (*Mus musculus* galur BALB/c) sehat dengan berat badan 20-25 g disuntikkan secara intraperitoneal dengan antigen putih telur 20% 0,2 mL/20 gBB. Pada hari ke-7 mencit diberi injeksi dengan dosis yang sama secara subkutan. Mencit dinyatakan alergi bila pada hari ke tujuh setelah penyuntikan ovalbumin timbul warna kemerahan bentolan disekitar tempat penyuntikan tersebut (Hahn *et al.*, 2003; Aldi *et al.*, 2015; Aldi *et al.*, 2017).

7. Pemberian Sediaan Uji

Mencit dibagi 5 kelompok, masing masing 5 ekor per kelompok yaitu:

- 1) Kelompok I: kelompok kontrol negatif (diberi Na-CMC)
- 2) Kelompok II: kontrol positif (diberi larutan antigen)
- 3) Kelompok III: diberi ekstrak bunga kincung 100 mg/kgBB
- 4) Kelompok IV: diberi ekstrak bunga kincung 300 mg/kgBB
- 5) Kelompok V: diberi ekstrak bunga kincung 1000 mg/kgBB

Pemberian sediaan dilakukan secara peroral selama 7 hari dengan alat sonde mencit dengan panjang 3 cm dan volume pemberian 0,2 mL/ 20 gBB mencit.

8. Perhitungan Jumlah Total Sel Leukosit

Setelah diberi ekstrak selama 7 hari, darah mencit diambil dari vena ekor dengan menggunakan pipet leukosit hingga tanda “0,5” lalu tambahkan larutan turk hingga tanda “11”. Lalu kocok beberapa waktu, kemudian buang 1-2 tetes pertama kemudian tetesi ke kamar hitung haemocytometer kemudian periksa di bawah mikroskop dengan perbesaran lemah. Rumus jumlah leukosit per μm adalah: sel-sel yang terhitung x 20 (1:20) x 10 (0,1 mm) : 4 (jumlah kotak dalam μm^2) atau jumlah sel yang terhitung dalam kotak dikalikan 50 (Moyes & Schulte, 2008).

$$\text{Jumlah total leukosit} = \text{jumlah sel} \times \frac{20}{0,4}$$

9. Perhitungan Persentase Leukosit

Setelah 7 hari pemberian ekstrak, dilakukan pembuatan apusan darah untuk perhitungan persentase leukosit dengan cara ambil darah mencit dari vena ekor, kemudian tetesi darah pada kaca objek dan gunakan kaca objek lain untuk meratakan apusan, tunggu hingga mengering. Setelah kering ditetesi dengan metanol sehingga melapisi seluruh apusan (5 menit). Tetesi larutan Giemsa 10% kemudian diamkan selama 20 menit. Cuci

dengan aquadest, tetesi minyak imersi lalu amati dibawah mikroskop (Moyes & Schulte, 2008).

10. Perhitungan Persentase Sel Basofil

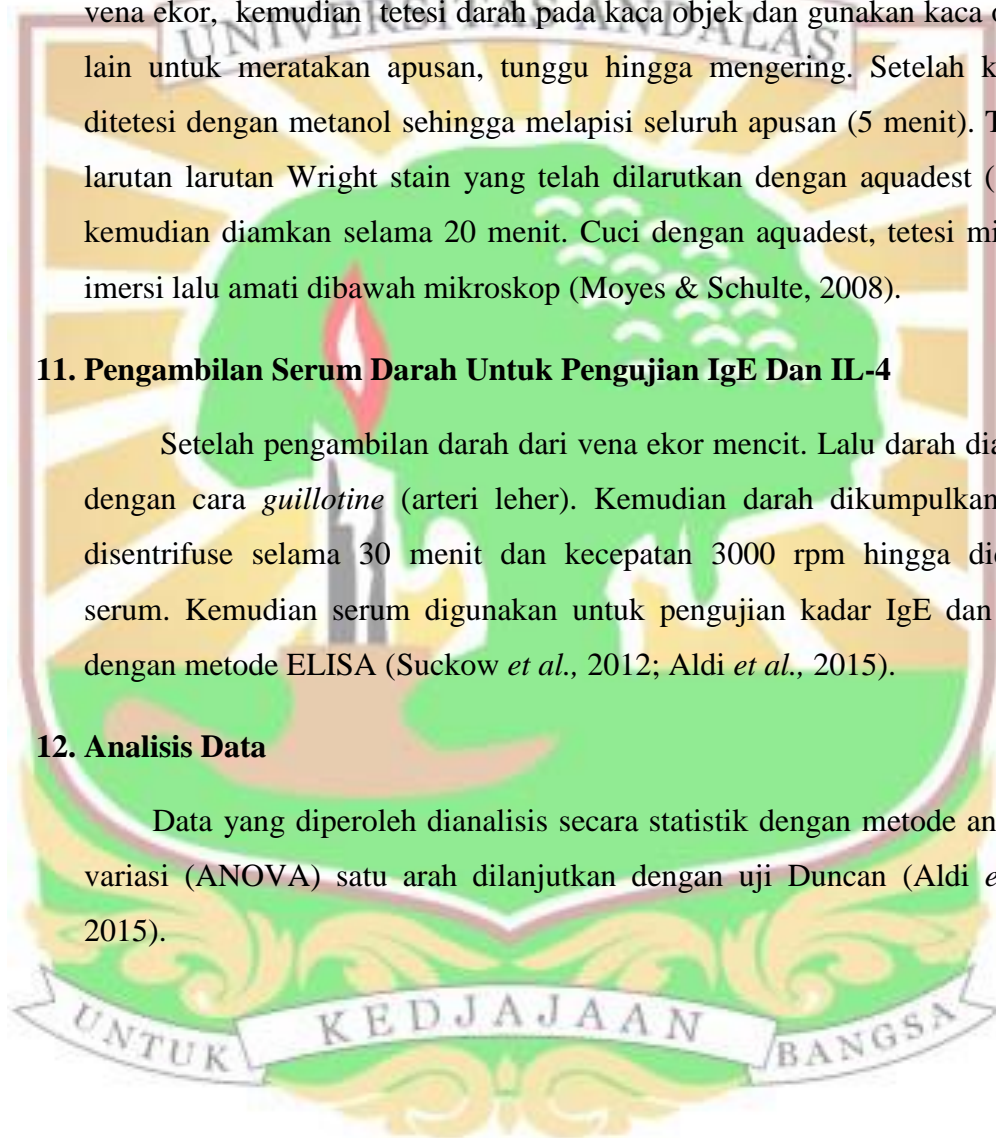
Dibuat apusan darah untuk dengan cara darah mencit diambil dari vena ekor, kemudian tetesi darah pada kaca objek dan gunakan kaca objek lain untuk meratakan apusan, tunggu hingga mengering. Setelah kering ditetesi dengan metanol sehingga melapisi seluruh apusan (5 menit). Tetesi larutan Wright stain yang telah dilarutkan dengan aquadest (1:20) kemudian diamkan selama 20 menit. Cuci dengan aquadest, tetesi minyak imersi lalu amati dibawah mikroskop (Moyes & Schulte, 2008).

11. Pengambilan Serum Darah Untuk Pengujian IgE Dan IL-4

Setelah pengambilan darah dari vena ekor mencit. Lalu darah diambil dengan cara *guillotine* (arteri leher). Kemudian darah dikumpulkan lalu disentrifuse selama 30 menit dan kecepatan 3000 rpm hingga didapat serum. Kemudian serum digunakan untuk pengujian kadar IgE dan IL-4 dengan metode ELISA (Suckow *et al.*, 2012; Aldi *et al.*, 2015).

12. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan metode analisis variasi (ANOVA) satu arah dilanjutkan dengan uji Duncan (Aldi *et al.*, 2015).



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Setelah dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak bunga kincung terhadap jumlah total leukosit, persentase leukosit, kadar IgE dan IL-4 pada mencit putih jantan diperoleh hasil sebagai berikut :

1. Hasil Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Laboratorium Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Andalas (ANDA) Padang, menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman bunga kincung (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) keluarga Zingiberaceae (Lampiran 5, Gambar 21).
2. Penelitian ini telah lulus kaji etik (Lampiran 5, Gambar 22).
3. Rendemen ekstrak bunga kincung adalah 14,11% (Lampiran 2, Tabel 2).
4. Dari standarisasi ekstrak bunga kincung dapat diketahui bahwa:
 - a) Parameter non spesifik
 - 1) Susut pengeringan ekstrak bunga kincung adalah 6,65% (Lampiran 2, Tabel 5).
 - 2) Kadar abu total ekstrak bunga kincung adalah 4,57%, hasil pemeriksaan (Lampiran 2, Tabel 6).
 - 3) Kadar abu tidak larut dalam asam ekstrak bunga kincung adalah 0.02% (Lampiran 2, Tabel 7).
 - b) Parameter Spesifik
 - 1) Pemeriksaan organoleptis ekstrak
Hasil yang diperoleh adalah ekstrak berwarna coklat kehitaman, rasa asam, baunya khas dan konsistensi berupa ekstrak kental (Lampiran 2, Tabel 3).

2) Uji kandungan kimia ekstrak

a. Kandungan fitokimia dari ekstrak bunga kincung positif mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik dan saponin (Lampiran 2, Tabel 8).

b. Kromatografi lapis tipis (KLT)

Terdapat 4 noda ekstrak bunga kincung 1,6 cm; 2,9 cm; 3,1 cm dan 4,0 cm sehingga nilai R_f 0,246; 0,446; 0,476 dan 0,615. Sedangkan noda pembanding rutin adalah 0,44 Hasil pemeriksaan dapat dilihat Lampiran 2 (Lampiran 2, Gambar 18).

c. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak bunga kincung didapat 1,564% (Lampiran 2, Tabel 11).

5. Hasil perhitungan rata-rata jumlah total leukosit mencit putih jantan setelah diberi ekstrak bunga kincung secara berurutan dari hewan kontrol, dosis 100 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB adalah 3,6; 3,95; 4,73 dan 6,01 $\times 10^3$ sel/ μ L (Lampiran 2, Tabel 12, Gambar 21). Hasil analisis anova satu arah jumlah total leukosit adalah $<0,05$ (Lampiran 8, Tabel 19).
6. Hasil perhitungan rata-rata persentase limfosit mencit putih jantan setelah diberi ekstrak bunga kincung secara berurutan dari hewan kontrol, dosis 100 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB adalah 70,0; 67,6; 62,0 dan 56,8 % (Lampiran 2, Tabel 13, Gambar 22). Hasil analisis anova satu arah persentase limfosit adalah $<0,05$ (Lampiran 8, Tabel 23).
7. Hasil perhitungan rata-rata persentase netrofil mencit putih jantan setelah diberi ekstrak bunga kincung secara berurutan dari hewan kontrol, 100 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB adalah 20,0%; 22,4%; 29,2% dan 36,8% (Lampiran 2, Tabel 13, Gambar 22). Hasil analisis anova satu arah persentase netrofil adalah $<0,05$ (Lampiran 8, Tabel 23).
8. Hasil perhitungan rata-rata persentase monosit mencit putih jantan setelah diberi ekstrak bunga kincung secara berurutan dari hewan kontrol, dosis 100 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB adalah 3,4%; 3,6%; 5,8% dan

- 2,2% (Lampiran 2, Table 13, Gambar 22). Hasil analisis anova satu arah persentase monosit adalah $>0,05$ (Lampiran 8, Tabel 23).
9. Hasil perhitungan rata-rata persentase eosinofil mencit putih jantan setelah diberi ekstrak bunga kincung secara berurutan dari hewan kontrol, dosis 100 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB adalah 6,6%; 6,4%; 5,8% dan 4,2% (Lampiran 2, Tabel 13, Gambar 22). Hasil analisis anova satu arah persentase eosinofil adalah $<0,05$ (Lampiran 8, Tabel 23).
10. Hasil perhitungan rata-rata persentase basofil mencit putih jantan setelah diberi ekstrak bunga kincung secara berurutan dari hewan kontrol, dosis 100 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB adalah 2,0%; 1,8%; 1,4% dan 0,8% (Lampiran 2, Tabel 14, Gambar 23). Hasil analisis anova satu arah persentase basofil adalah $<0,05$ (Lampiran 8, Tabel 30).
11. Kadar rata-rata IgE mencit putih jantan setelah diberi ekstrak bunga kincung secara berurutan dari hewan kontrol negatif, kontrol positif, dosis 100 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB adalah 0,173; 1,597; 0,944; 0,629 dan 0,210 $\mu\text{g/mL}$ (Lampiran 2, Tabel 15, Gambar 24). Hasil analisis anova satu arah kadar IgE adalah $<0,05$ (Lampiran 8, Tabel 34).
12. Kadar rata-rata IL-4 mencit putih jantan setelah diberi ekstrak bunga kincung secara berurutan dari hewan kontrol negatif, kontrol positif, dosis 100 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB adalah 23,13; 41,538; 33,024; 27,933 dan 25,192 ng/mL (Lampiran 2, Tabel 16, Gambar 25). Hasil analisis anova satu arah kadar IL-4 adalah $<0,05$ (Lampiran 8, Tabel 38).

B. Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan penentuan jumlah leukosit total, persentase sel leukosit, persentase sel basofil, kadar IgE dan IL-4 mencit putih jantan. Sampel yang digunakan adalah bunga kincung. Sampel bunga kincung yang digunakan diambil di Teluk bayur Jalan Raya Padang-Painan Kota Padang.

Identifikasi tanaman telah dilakukan di Herbarium Laboratorium Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Andalas (ANDA) Kampus Limau Manih Padang

Sumatra Barat. Tujuan identifikasi adalah untuk mengetahui identitas sampel yang akan digunakan. Berdasarkan hasil identifikasi tersebut dapat diketahui kepastian bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga kincung (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) keluarga Zingiberaceae (Lampiran 5, Gambar 22).

Proses penyiapan pembuatan ekstrak diawali dengan maka membersihkan bunga kincung segar dari pengotor yang melekat lalu bunga dirajang kecil-kecil dan lalu keringkan hingga menjadi simplisia kering. Kemudian simplisia kering dihaluskan dengan menggunakan blander sehingga didapat serbuk simplisia. Lalu serbuk diayak dengan pengayak nomor 60. Penghalusan simplisia ini dilakukan dengan tujuan memperluas permukaan simplisia sehingga proses penarikan zat aktif akan lebih efektif dan efisien atau agar pelarut dapat berpenetrasi dengan mudah sehingga penarikan zat aktif lebih sempurna. Serbuk simplisia yang kemudian dimaserasi, pemilihan metode maserasi ini karena dapat menggunakan sampel dalam jumlah yang banyak, pelaksanaannya sederhana, tidak memerlukan perlakuan khusus, tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak terurai. Maserasi sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70 % (Depkes, 2011). Penggunaan etanol sebagai pelarut universal disebabkan karena sifatnya yang mudah melarutkan senyawa zat aktif baik yang bersifat polar, semi polar dan non polar (Harborne, 2006). Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan 3 kali pengulangan menggunakan pelarut etanol 70% (1:10), serbuk direndam selama 6 jam pertama sambil sekali-kali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Lakukan dua kali pengulangan lagi dengan menggunakan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Saring dengan menggunakan kertas saring dan hasil maserat dikumpul lalu di uapkan pada rotary evaporator hingga didapat ekstrak kental (Depkes, 2011). Dari 250 gram serbuk simplisia dihasilkan sebanyak 35,276 gram ekstrak kental sehingga diperoleh nilai rendemen ekstrak 14,11% (Lampiran 2, Tabel 2).

Setelah diperoleh ekstrak bunga kincung dilakukan penentuan parameter dan metode uji ekstrak sebagai persyaratan untuk mendapatkan mutu ekstrak

sesuai standar umum ekstrak tumbuhan obat, untuk mendapatkan ekstrak yang aman dan terjamin mutunya. Parameter yang diuji yaitu parameter non spesifik, parameter spesifik dan uji kandungan ekstrak.

Parameter non spesifik yang dilakukan dalam penelitian ini adalah susut pengeringan, kadar abu, kadar abu tidak larut asam. Tujuan dilakukan penetapan susut pengeringan adalah memberikan batasan minimal atau rentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes, 2000). Hasil yang diperoleh dari susut pengeringan ekstrak adalah 6,65% (Lampiran 2, Tabel 5). Hal ini memenuhi ketentuan dari Farmakope Herbal Indonesia, dimana susut pengeringan ekstrak bunga kincung tidak lebih dari 10%. Dan hasil kadar abu total ekstrak bunga kincung sebesar 4,57% (Lampiran 2, Tabel 6) hal ini memenuhi ketentuan dari Farmakope Herbal Indonesia dimana kadar abu total ekstrak bunga kincung tidak lebih dari 7,5%. Sedangkan kadar abu tidak larut asam yang dihasilkan adalah 0,02% (Lampiran 2, Tabel 7) dan menurut Farmakope Herbal Indonesia bahwa kadar abu tidak larut asam bunga kincung tidak lebih dari 0,1%.

Parameter identitas merupakan salah satu karakterisasi spesifik ekstrak yang bertujuan untuk memberikan identitas yang objektif dari nama dan spesifik dari tanaman yang digunakan (lihat Lampiran 2, Tabel 3). Organoleptik yang bertujuan untuk pengenalan awal yang sederhana dari ekstrak kincung yang digunakan yaitu berupa ekstrak kental, bau khas, warna hitam kecoklatan, dan rasa asam (Lampiran 2, Tabel 4). Uji kandungan kimia ekstrak meliputi uji fitokimia, dimana dari hasil reaksi antara ekstrak bunga kincung dengan reagen spesifik-spesifiknya, menunjukkan hasil bahwa ekstrak bunga kincung positif mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik dan saponin. Menurut penelitian yang dilakukan sebelumnya, ekstrak bunga kincung mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid, saponin (Lachumy *et al.*, 2010; Wijekoon *et al.*, 2011; Khor *et al.*, 2017).

Pada uji kromatografi lapis tipis, eluen atau fase gerak yang digunakan menurut Farmakope Herbal Indonesia untuk bunga kincung adalah etil asetat,

asam format, dan air dengan perbandingan 100: 15: 17. Buat larutan uji 5% dalam metanol P. Untuk larutan pembanding digunakan rutin 1% dalam etanol P. Kemudian larutan uji dan larutan pembanding ditotolkan pada plat silica gel 60 F₂₅₄ di bagian batas bawah yang telah digaris dengan pensil. Panjang plat adalah 6,5 mL dan lebar 3 cm, dan jarak untuk eluen atau fase gerak dengan batas bawah adalah 1 cm. Setelah ditotolkan plat silica dimasukkan kedalam chamber yang telah berisi eluen atau fase gerak, lalu tutup dan tunggu eluen bergerak sampai tanda batas atas, kemudian dikeluarkan dan dikeringkan dan setelah kering dapat diukur dibawah sinar UV (λ 254 nm) sehingga dihasilkan 4 noda yang terbentuk (Lampiran 2, Gambar 18). Uji kadar flavonid total ekstrak bunga kincung dengan cara metode 2 yang tertera pada Suplemen II Farmakope Herbal Indonesia (Depkes, 2011). Baik pembanding rutin atau ekstrak dilarutkan dalam etanol 80%. Kemudian pipet masing masing 0,5 mL lalu tambahkan 1,5 mL etanol P, 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL natrium asetat 1M dan aquadest 2,8 mL. Panjang gelombang maksimum yang didapat adalah 418 nm (Lampiran 2, Gambar 19). Lakukan pengukuran larutan pembanding rutin dengan beberapa konsentrasi sehingga didapat persamaan linier $y = 0,0046x - 0,0562$ dengan R= 0,998 (Lampiran 2, Gambar 20). Lalu ukur absorban ekstrak pada panjang gelombang 418 nm. Kemudian masukan nilai absorban ekstrak kedalam persamaan linier, sehingga didapat rata-rata kadar flavonoid total 1,564% (Lampiran 2, Tabel 11). Uji kadar flavonoid total dilakukan untuk mengetahui kandungan flavonoid dalam ekstrak bunga kincung, dimana diketahui bahwa flavonoid memiliki banyak khasiat seperti antioksidan, aktivitas antibakteri, antivirus, dan memiliki sifat antiinflamasi, analgesik, hepatoprotektif, sitostatik, apoptosis, dan efek antialergi (Middleton *et al.*, 2000; Williams *et al.*, 2004; Kawai *et al.*, 2007).

Penelitian ini menggunakan mencit putih jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 g sebanyak 25 ekor. Mencit putih jantan dipilih karena memiliki fisiologis yang sama dengan manusia, mudah ditangani, mudah dipelihara dan ekonomis. Selain itu maka dipilih mencit putih jantan karena

memiliki hormon yang lebih stabil daripada mencit betina. Untuk mengurangi penyimpangan hasil penelitian, maka dipilih mencit dengan jenis kelamin yang sama, usia dan berat badan relatif sama (Thompson, 1990).

Sebelum diberi perlakuan mencit diaklimatisasi selama 7 hari. Aklimatisasi dilakukan dengan memberi mencit makan dan minum serta ditimbang berat badannya. Tujuan aklimatisasi adalah agar mencit terbiasa dengan lingkungan baru dan tidak stress. Mencit yang digunakan adalah mencit yang tidak menunjukkan perubahan berat badan berarti serta menunjukkan perilaku yang normal. Pada aklimatisasi yang dilakukan selama seminggu menunjukkan bahwa dari 25 ekor mencit yang digunakan menunjukkan perilaku normal dan tidak mengalami sakit. Hal ini menunjukkan mencit tersebut bisa digunakan sebagai hewan uji (Vogel, 2002).

Mencit dikelompokkan menjadi 5 kelompok dengan 3 perlakuan yang berbeda yaitu kontrol negatif, kontrol positif, dan pemberian sediaan ekstrak. Kelompok kontrol negatif diberikan natrium CMC 0,5%, Kelompok kontrol positif diberikan antigen, sedangkan kelompok sediaan uji dibagi menjadi 3 kelompok dosis yang berbeda yaitu 100 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB.

Pada hari pertama dilakukan sensitisasi terhadap hewan percobaan dengan cara menyuntikkan putih telur ayam ras 20% secara intraperitoneal sebanyak 0,2 mL/20 gBB sebagai antigen. Putih telur ayam ras digunakan sebagai antigen karena putih telur ayam ras memiliki sifat imunogeniknya cukup tinggi (Kim, 2008). Dengan kandungan protein yang cukup tinggi yaitu sekitar 12% (Sirait, 1986). Tujuan sensitisasi pertama adalah untuk membangkitkan respon imun primer. Penyuntikan antigen pertama dilakukan secara intraperitoneal bertujuan agar proses pengenalan antigen lebih cepat oleh sel limfosit. Proses pengenalan ini dilakukan oleh sel makrofag, karena sel ini merupakan sel APC (*antigen presenting cell*) dan banyak terdapat pada rongga perut (Kimura *et al.*, 1978).

Pada hari ke-7 hewan uji kembali disuntik dengan antigen putih telur secara subkutan. Tujuannya adalah untuk memperbanyak terbentuknya antibodi

IgE, sehingga reaksi alergi semakin hebat. Pembosteran diberikan secara subkutan dengan tujuan agar tidak menimbulkan reaksi shock anafilaksis dan kematian hewan percobaan (Price & Hamilton, 2007). Reaksi anafilaksis terjadi karena proses degranulasi sel mast dan basofil di dalam tubuh. Reaksi ini terjadi saat antigen berikatan dengan antibodi IgE yang ada pada permukaan sel mast dan basofil. Ikatan ini dalam hitungan beberapa menit dapat menyebabkan degranulasi sel mastosit yang berakibat pengeluaran mediator (Parslow *et al.*, 2001). Hewan yang digunakan untuk pengujian selanjutnya adalah hewan alergi dimana akan memiliki tanda kemerahan atau bentolan disekitar tempat penyuntikan. Beri sediaan ekstrak selama 7 hari secara oral dengan menggunakan alat sonde.

Perehitungan jumlah total leukosit dilakukan dengan mengambil darah vena ekor mencit. Darah mencit dihisap dengan pipet leukosit hingga tanda "0,5" lalu tambahkan larutan Turk hingga tanda "11". Larutan Turk berfungsi untuk mengencerkan dan melisiskan darah selain sel leukosit sehingga memudahkan perhitungan (Moyes & Schulte, 2008). Berdasarkan hasil perhitungan sel leukosit total didapat peningkatan sel leukosit total dari keempat kelompok. Peningkatan sel leukosit tertinggi terdapat pada dosis 1000 mg/kgBB yaitu $6,01 \times 10^3$ sel/ μ L darah. Berdasarkan uji statistik ANOVA satu arah menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari empat kelompok perlakuan ($<0,05$). Namun peningkatan ini masih dalam rentang normal dimana sel leukosit normal mencit berkisar 2000-10000/ μ L. Peningkatan jumlah leukosit menggambarkan adanya respon secara humoral dan seluler dalam melawan agen patogen atau menandakan adanya peningkatan kemampuan pertahanan tubuh (Zalizar, 2013). Dimana fungsi dari leukosit untuk melindungi tubuh dari patogen dengan cara seperti menghasilkan antibodi dan proses fagositosis. Peningkatan leukosit diduga adanya kandungan flavonoid didalam bunga kincung. Flavonoid memiliki kemampuan meningkatkan sistem imunomodulator dengan meningkatkan efektivitas proliferasi limfokin yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis (Akrom *et al.*,

2009). Analisa uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa pada kelompok I dan II terdapat pada subset 1 yang artinya tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kedua kelompok, namun terdapat perbedaan yang nyata dengan kelompok III dan IV (Lampiran 8, Tabel 20).

Perhitungan persentase sel leukosit dilakukan dengan membuat preparat apusan darah vena ekor yang dilihat di bawah mikroskop. Dengan menggunakan pewarna giemsa sel yang teramati adalah neutrofil, limfosit, monosit dan eosinofil. Sel basofil tidak tampak jelas karena larut dalam pewarna giemsa. Untuk sel basofil menggunakan pewarna wright stain karena dengan pewarna wright stain dapat menunjukkan inti dan granula sel yang lebih jelas, hal tersebut disebabkan karena komposisi wright stain yang terdiri dari metilen blue yang dapat memberikan warna biru keunguan pada inti yang mengandung DNA. Penghitungan persentase leukosit dilakukan dengan cara cross sectioned atau penghitungan leukosit yang dimulai dari bagian tepi ulasan darah dengan cara mengular hingga diperoleh 100 sel leukosit kemudian dinyatakan dalam persen (Svobodova & Vykusova, 1991).

Hasil perhitungan persentase sel leukosit mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak bunga kincung persentase terbanyak adalah sel limfosit dan paling sedikit adalah sel basofil. Sebagaimana menurut literatur bahwa pada mencit persentase terbesar adalah sel limfosit 70-80 % dan paling sedikit adalah basofil tidak lebih dari 2% (O'Connell et al., 2015). Hasil persentase leukosit dapat dilihat pada Lampiran 2, Tabel 13.

Persentase limfosit secara berurutan dari kelompok I, II, III, dan IV adalah 70,0%; 67,6%; 62,0%; 56,8%. Setelah dilakukan analisa Anova satu arah terjadi penurunan secara signifikan limfosit ($<0,05$). Penurunan limfosit ini dapat dipicu beberapa hal seperti stress dalam selama proses penanganan (Schwab *et al.*, 2005; O'Connell *et al.*, 2015), dengan bertambahnya usia dan ketika jumlah netrofil meningkat (Schwab *et al.*, 2005; Provencher *et al.*, 2010). Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa pada kelompok I dan II sama-sama terletak pada subset 1 yang artinya tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kedua

kelompok, dan kelompok III dan IV sama-sama terletak pada subset 2 yang artinya tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok III dan IV (Lampiran 8, Tabel 24).

Persentase netrofil secara berurutan dari kelompok I, II, III, dan IV adalah 20,0%; 22,4%; 29,2%; 36,8%. Hasil analisa anova satu arah terjadi peningkatan netrofil secara signifikan ($<0,05$). Persentase normal netrofil pada mencit adalah 20-30 % dari jumlah diferensial leukosit (Provencher *et al.*, 2010; O'Connell *et al.*, 2015). Peningkatan netrofil atau yang disebut dengan neutrofilia berhubungan dengan respons terhadap stres atau kegembiraan (Schwab *et al.*, 2005) dan biasanya meningkat pada kasus infeksi bakteri dan peradangan akut (Jain, 1993; Brown *et al.*, 2013), dan keadaan yang berperan fagositik dan mikrobiosidal primer (O'Connell *et al.*, 2015). Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa pada kelompok I dan II sama-sama terletak pada subset 1 yang artinya tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kedua kelompok dan terdapat perbedaan nyata pada kelompok III dan IV (Lampiran 8, Tabel 25).

Persentase monosit secara berurutan dari kelompok I, II, III, dan IV adalah 3,4%; 3,6%; 3,0% dan 2,2%. Hasil analisa anova satu arah terjadi kenaikan dan penurunan monosit atau tidak berbeda nyata ($>0,05$). Monosit merupakan leukosit terbesar dan persentase normal monosit pada mencit berkisar antar 2-6% dari populasi sel yang bersirkulasi dan jumlahnya meningkat sebagai respons terhadap infeksi (Suckow *et al.*, 2012). Penurunan jumlah monosit pada dosis 300 dan 1000 mg/kgBB diperkirakan karena monosit bermigrasi ke jaringan atau ke lokasi kerusakan atau infeksi di mana mereka kemudian matang menjadi makrofag. Monosit bersama dengan makrofag dan neutrofil jaringan, adalah sel-sel utama yang terlibat dalam pertahanan lini pertama melawan organisme patogen atau sel asing (Ward *et al.*, 2018). Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa pada kelompok I dan II sama-sama terletak pada subset 1 yang artinya tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kedua kelompok dan kelompok II, III dan IV sama-sama terletak pada subset 2 yang artinya tidak terdapat perbedaan yang nyata antara ketiga kelompok tersebut (Lampiran 8, Tabel 26).

Hasil analisa anova satu arah terjadi penurunan eosinofil dan basofil secara signifikan ($<0,05$). Persentase normal sel basofil $<2\%$ (Dvorak, 2015) dan eosinofil 0-7% dari keseluruhan diferensial leukosit (Provencher *et al.*, 2010; O'Connell *et al.*, 2015). Basofil atau eosinofil akan meningkat jumlahnya selama respons terhadap antigen, parasit dan alergi (Stone *et al.*, 2010; Furuya *et al.*, 2013). Basofil merupakan salah satu granulosit yang berperan dalam proses terjadinya alergi dimana bila antigen masuk untuk kedua kalinya, maka antigen tersebut langsung akan diikat oleh pasangan IgE yang ada pada permukaan sel basofil (Stone *et al.*, 2010). Sel akan mengalami proses degranulasi dan melepaskan mediator-mediator alergi seperti histamin, serotonin, prostaglandin, dll. Mediator-mediator bertanggung jawab terhadap timbulnya reaksi alergi seperti gatal-gatal, kemerahan, udem, dan gangguan fungsi jaringan (Parslow *et al.*, 2001; Stone *et al.*, 2010). Uji lanjut Duncan pada persentase basofil dan eosinofil menunjukkan bahwa pada kelompok I dan II sama-sama terletak pada subset 1 yang artinya tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kedua kelompok dan kelompok II, III dan IV sama-sama terletak pada subset 2 yang artinya tidak terdapat perbedaan yang nyata antara ketiga kelompok tersebut (Lampiran 8, Tabel 27 dan 31)

Kadar dari IgE mencit putih jantan hipersensitivitas dapat dilihat pada Tabel 15 dan penurunan kadar IgE dengan pemberian variasi dosis dapat dilihat pada Gambar 18. Setelah dilakukan analisa Anova satu arah terjadi penurunan kadar IgE secara signifikan ($<0,05$). Pada proses hipersensitivitas, antibodi yang terlibat adalah antibodi IgE, IgE akan diproduksi lebih banyak sebagai bentuk respon terhadap alergi. Selanjutnya IgE spesifik akan berikatan dengan sel mast dan sel basofil yang akan mengalami degranulasi dan melepaskan produk oksidatif. Penurunan kadar IgE mengakibatkan sedikit yang terikat pada sel mast atau basofil sehingga menghambat degranulasi dan pelepasan mediator salah satunya adalah histamin yang merupakan penyebab timbulnya gejala reaksi hipersensitivitas tipe I (Kawai *et al.*, 2007; Baratawidjaja & Rengganis, 2014). Rutin dinyatakan memiliki aktivitas antialergi dengan adanya pengaruh terhadap

aktivitas sel mast yang dimediasi oleh IgE (Gullón *et al.*, 2017). Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif dan dosis 1000 mg/kgBB sama-sama terletak pada subset 1 yang artinya tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kedua kelompok, dan terdapat perbedaan yang nyata pada kelompok 300 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan kontrol positif (Lampiran 8, Tabel 35).

Kadar dari IL-4 mencit putih jantan hipersensitivitas dapat dilihat pada Tabel 16 dan penurunan kadar IL-4 dengan pemberian variasi dosis dapat dilihat pada Gambar 19. Hasil analisa Anova satu arah pada kadar IL-4 setelah pemberian ekstrak bunga kincung bahwa ekstrak bunga kincung dapat menurunkan kadar IL-4 mencit secara signifikan ($<0,05$). Pada reaksi hipersensitivitas tipe 1, peran sitokin sangat besar terutama proses pembentukan IgE. Interleukin yang berperan dalam pengaturan tersebut adalah sitokin yang dihasilkan oleh sel Th2 berupa IL4 dan IL10. IL-4 dihasilkan oleh sel T, mastosit, sel basofil dan sel eosinofil dengan fungsi utama memicu proliferasi limfosit B, IL-4 dapat menginduksi ekspresi MHC kelas II pada permukaan limfosit B yang istirahat dan mendorong produksi antibodi khususnya IgE dan IgG1 dari limfosit B (Burtis *et al.*, 2012; Baratawidjaja & Rengganis, 2014). Dalam beberapa penelitian dinyatakan bahwa flavonoid dapat menghambat IL-4 dan IL-13 (Kawai, *et al.*, 2007). Rutin juga dinyatakan memiliki aktivitas antialergi dengan adanya pengaruh terhadap aktivitas sel mast yang dimediasi oleh IgE, memiliki efek inflamasi dan melindungi terhadap rinitis alergi dengan cara mengurangi kadar sitokin inflamasi (Kim *et al.*, 2015; Gullón *et al.*, 2017). Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif, dosis 1000 mg/kgBB, dosis 300 mg/kgBB sama-sama terletak pada subset 1 yang artinya tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kedua kelompok, dan terdapat perbedaan yang nyata pada kelompok 100 mg/kgBB dan kontrol positif (Lampiran 8, Tabel 39).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap pengaruh pemberian ekstrak bunga kincung terhadap jumlah leukosit total, persentase leukosit (sel netrofil, monosit, limfosit, eosinofil dan basofil), kadar IgE dan IL-4 mencit putih jantan alergi, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak bunga kincung dengan dosis 100; 300 dan 1000 mg/kgBB dapat meningkatkan jumlah total sel leukosit mencit putih jantan alergi secara signifikan.
2. Pemberian ekstrak bunga kincung dengan dosis 100; 300 dan 1000 mg/kgBB dapat meningkatkan persentase sel netrofil mencit putih jantan alergi secara signifikan, menurunkan persentase sel monosit mencit putih jantan alergi secara tidak signifikan, serta menurunkan persentase sel limfosit, eosinofil dan basofil mencit putih jantan alergi secara signifikan.
3. Pemberian ekstrak bunga kincung dengan dosis 100; 300 dan 1000 mg/kgBB dapat menurunkan kadar IgE mencit putih jantan alergi secara signifikan.
4. Pemberian ekstrak bunga kincung dengan dosis 100; 300 dan 1000 mg/kgBB dapat menurunkan kadar IL-4 mencit putih jantan alergi secara signifikan.
5. Ekstrak bunga kincung dapat digunakan sebagai salah satu obat antialergi dan imunomodulator.

B. Saran

1. Disarankan kepada peneliti selanjutnya dapat menguji bunga kincung dengan menggunakan parameter lainnya seperti IL-1, IL-10, IL-13, TNF- α , CD4, CD8, dll.
2. Disarankan kepada peneliti selanjutnya dapat mengisolasi bunga kincung dengan cara lain seperti dalam bentuk fraksi-fraksi.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, AH Lichtman, and S Pillai, 2015. *Cellular and Molecular Immunology*, 8th.Ed.Sounder Elsevier.
- Abdelwahab, K.S.I., F.Q. Zaman, A.A. Mariod, M. Yaacob, A.H.A Abdelmageed, & S. Khamis, 2010. Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of the essential oils of *Etilingera elatior* and *Cinnamomum pubescens*. *J Sci Food Agric* 90: 2682-2668.
- Adelman DC, TB Casale dan J Corren, 2002. *Manual Of Allergy and immunology* 4th edition. Philadelphia.
- Aldi Y, W Kardela dan R Efendy, 2017. Uji efek anti anafilaksis kutan aktif dari ekstrak etanol bunga kincung (*Etilingera elatior* (jack) R. M. Smith) pada mencit putih jantan. *J Farmasi Higea*, 9(1) 30-40.
- Aldi Y, Z Rizal, dan R Yesika, 2016. Uji ekstrak etanol bunga kincung (*Etilingera elatior* (jack) R.m. Sm.) Dalam menghambat degranulasi sel mastosit mencit putih jantan yang tersensitisasi aktif secara invitro, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Padang. Dipresentasi pada seminar nasional & workshop perkembangan terkini sains farmasi dan klinik 6.Padang.
- Aldi Y, R Uthia, dan J Parwati, 2016. Uji aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag dari ekstrak bunga kincung (*Etilinera elatior* (jack) R. M. Sm.) Pada mencit putih jantan, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Padang.
- Aldi, Y., Yuliandra, Y., Nasrul, E., Yanwirasti, Y., Handayani, D., & Bakhtiar, A. 2015. Decreased Interleukin-4 Level of Type I Hypersensitive Mice Using Scopoloetin Isolated from Noni Fruit (*Morinda citrifolia* L.). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*.
- Andarwulan N, Batari R, Sandrasari DA, Bolling B, dan Wijaya H, 2010. Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *J Food Chemistry* .121 (2010) 1231–1235
- Akrom, A., & MI, E. (2009). Gambar an Jumlah Dan Hitung Jenis Leukosit Serta Waktu Jendal Darah Pada Tikus Betina Yang Diinduksi 7, 12-Dimetilbenz (A)

- Antrasen (DMBA) Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* L) The number of total leucocyte and coagulation time. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 2(2), 69-78.
- Bain, B. J. (2014). *Blood cells: a practical guide*. John Wiley & Sons.
- Baratawidjaja, KG dan I Rengganis, 2014. *Imunologi Dasar Edisi ke-11*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Bellavite PA, Conforti, F Pontarollo, and Ortolani, 2006. Immunology and Homeopathy; Cells of the immune system and inflammation Evid Based Complement Altern Med. 3;13–24
- Bochner BS and W.W Busse, 2005. Allergy and Asthma *J Allergy Clin Immunol*; 115:953-9.
- Brown DE., SJ Libby., SM Moreland., MW McCoy., T Brabb ., A Stepanek ., FC Fang., and CS Detweiler, 2013. *Salmonella enterica* causes more severe inflammatory disease in C57/BL6 Nramp1G169 mice than Sv129S6 mice. *Vet Pathol* 50:867–876.
- Burtis CA, ER Ashwood, and DE Bruns, 2006. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 4 th ed., Elsevier Inc. USA, Washington, D.C.645-723.
- Chan EWC, YY Lim, dan M Omar, 2007. Antioxidant and antibacterial activity of leaves of *Etlingera* species (*Zingiberaceae*) in peninsular Malaysia. *Food Chem*. 2007;104:1586–1593.
- Cruse, J. M., & Lewis, R. E. (2010). *Atlas of immunology*. CRC Press, 409-415.
- Departemen Kesehatan RI. (1985). *Cara pembuatan simplisia*. Jakarta: Penerbit Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Penerbit Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen kesehatan RI. (2008). *Farmakofe Herbal Indonesia (Edisi I)*. Jakarta: Penerbit Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen kesehatan RI. (2011). *Suplemen II Farmakofe Herbal Indonesia a (Edisi I)*. Jakarta: Penerbit Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Dvorak, A. M., 2005. Ultrastructure of mast cells and basophils (Vol. 85). Karger Medical and Scientific Publishers, 54-55.
- Furuya Y, A Inagaki, M Khan, K Mori, JM Penninger, M Nakamura, N Udagawa, K K, K Ohya, K Uchida, H Yasuda, 2013. Stimulation of bone formation in cortical bone of mice treated with a receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL)-binding peptide that possesses osteoclastogenesis inhibitory activity. *J Biol Chem* 288:5562–5571.
- Gullón, B., Lú-Chau, T. A., Moreira, M. T., Lema, J. M., & Eibes, G, 2017. Rutin: A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability. *Trends in food science & technology*, 67, 220-235.
- Habsah M, NH Lajis, MA Sukari, YH Yap, H Kikuzaki, N Nakatani, dan AM Ali, 2005. Antitumour-Promoting and Cytotoxic Constituents of *Etlingera Elatior*. *Malaysian Journal of Medical Science*, 12(1), 6-12.
- Habsah M, HL Nordin, F Abas, AM Ali, MA Sukari, YY Hin, H Kikuzaki & N Nakatani, 2005. Antioxidative constituent from *Etlingera elatior*. *J Nat Prod*. 68, 285-288.
- Hidayat SS dan JR Hutapea, 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Edisi 1: 440-441. Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Hahn, Y. S., Taube, C., Jin, N., Takeda, K., Park, J. W., Wands, J. M., ... & Gelfand, E. W, 2003. $V\gamma 4^+$ $\gamma\delta$ T cells regulate airway hyperreactivity to methacholine in ovalbumin-sensitized and challenged mice. *The Journal of Immunology*, 171(6), 3170-3178.
- Harborne, J, 2006. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis terbitan ke 2 cetakan ke 4. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hoffbrand, A. V., & PAH, M, 2013. Kapita selekta hematologi edisi 6. Jakarta: EGC.
- Jain NC, 1993. Comparative hematologic features of some avian and mammalian species, p 54–71 In: Jain NC, editor. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia (PA): Lea and Febiger.

- Jaafar FM, CD Osman, NH Ismail, , dan K Awang, 2007, Analysis of Essential Oils of Leaves, Stem, Flower and Rizomes of *Etingera elatior* Jack., The Malaysian J. Analys. Sci. 11, (1), 269-273
- Janeway CA, 2001. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. New York: Marion Morrow, Rory MacDonald Garland Publishing.
- Karlsson MR, J Rugtveit and P Brandtzaeg, 2004. Allergen-responsive CD4+CD25+ regulatory T cells in children who have outgrown cow's milk allergy J Exp Med. 199;1679–1688.
- Katzung, B. G. 2001. Farmakologi Dasar dan Klinik edisi pertama. Jakarta: Salemba Medika.
- Kawai, M., Hirano, T., Higa, S., Arimitsu, J., Maruta, M., Kuwahara, Y., ... & Ogata, A, 2007. Flavonoids and related compounds as anti-allergic substances. Allergology International, 56(2), 113-123.
- Khaw,S.H, 2001.The Genus *Etingera* (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia Including a New Species. Garden's Bulletin Singapore. 53:191-239.
- Khor, P. Y., Na'im Mohamed, F. S., Ramli, I., Nor, N. F. A. M., Razali, S. K. C. M., Zainuddin, J. A., & Jaafar, N. S. M, 2017. Phytochemical, Antioxidant and Photo-Protective Activity Study of Bunga Kantan (*Etingera elatior*) Essential Oil. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 7(08), 209-213.
- Kiswari R, 2014. Hematologi dan Transfusi. Jakarta : Erlangga
- Kimura, M., I Waki, and M Kobuko, 1978. Inhibition Of Compound 48/80 Mediated Histamin Release From Isolated Rat Mast Cell By Oosponol Related Compounds (4 - acyl -isocoumarins). Journal Pharmacol. 28, 639 - 673.
- Kim, S.H., T.K Kwon., and Shin, 2008. Antiallergic Effects of *Vitis amurensis* on Mast Cell-Mediated Allergy Model, Exp Biol Med (Maywood). 233(2), 192-199.
- Kim, H. Y., Nam, S. Y., Hong, S. W., Kim, M. J., Jeong, H. J., & Kim, H. M, 2015. Protective effects of rutin through regulation of vascular endothelial growth

factor in allergic rhinitis. *American journal of rhinology & allergy*, 29(3), e87-e94.

- Krajarng A, C Malin, dan W Ramida, 2017. *Etingera elatior* Extract promotes cell death in B16 melanoma cells via down-regulation of ERK and Akt signaling pathways. *BMC Complementary and Alternative Medicine* . 2017. 17:415 (1-9)
- Kresno SB, 2001. *Imunologi diagnosis dan prosedur laboratorium* (Edisi ke IV). Jakarta : Falkutas kedokteran Universitas Indonesia
- Lachumy SJT, S Sasidharan, V Sumathy and Z Zuraini, 2010. Pharmacological activity, phytochemical analysis and toxicity of methanol extract of *Etingera elatior* (torch ginger) flowers. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* (2010)769-774
- Lestari T dan Ruswanto, 2015. Potensi antikanker dari ekstrak Kecombrang dengan berbagai tingkat kepolaran terhadap sel T47D. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* . 14(1), 8-11.
- Levinson W, 2014. Hypersensitivity (Allergy). In: *Review of Medical Microbiology and Immunology*. Vol 1, 13th ed. San Francisco: McGrawHill Education. 2014:1195-202
- Linden M, JM Ward and S Cherian, 2011. Hematopoietic and lymphoid tissues, p 309–338 In: *Trueting PM, Dintzis SM, editors. Comparative anatomy and histology: a mouse and human atlas*. Amsterdam (the Netherlands): Elsevier.
- Maizels RM, 2005. Infections and Allergy Helminthes, Hygiene and Host Immune Regulation, *Curr Opin Immunol*. 17:656–661
- Maimulyanti A dan AR Prihadi, 2015. Chemical composition, phytochemical and antioxidant activity from extract of *Etingera elatior* flower from Indonesia. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 3(6): 233-238
- Mandhane SN, JH Shah, R Thennati, 2011. Allergic rhinitis: An update on disease, present treatments and future prospects. *Int Immunopharmacol*. 2011;11(11):1646-1662.

- Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52(4), 673-751.
- Moore D. 2000. Hematology of the mouse (*Mus musculus*), p 1219–1224 In: Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC, editors. *Schalm's veterinary hematology*. Hoboken (NJ): Wiley–Blackwell.
- Moyes, C. D., & PM Schulte, 2008. *Principles of animal physiology* (Vol. 754). San Francisco: Pearson/Benjamin Cummings.
- Murakami A, AM Ali, SK Mat, K Koshimizu, dan H Ohigashi, 2000. Screening for in-vitro antitumour promoting activities of edible plants from Malaysia. *J.Biosci Biotechnol Biochem*. 64, 9-16.
- Naufalin R, Jenie BSL, Kusnandar F, Sudarwanto M, dan Rukmini H, 2005. Aktivitas antibakteri ekstrak bunga kecombrang terhadap bakteri patogen dan perusak pangan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 16, (2), 119-125.
- Nithitanakool S, V Teeranachaideekul, L Ponpanich, N Nopporn, T Junhunkit, P Wanasawas dan M Chulasiri, 2014. In vitro and in vivo skin whitening and anti-aging potentials of hydroglycolic extract from inflorescence of *Etilingera elatior*. *JAASP*. 3, 314-325
- Nugraha, G. 2015. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. Jakarta: CV Trans Info Medika
- O'Connell, K. E., Mikkola, A. M., Stepanek, A. M., Vernet, A., Hall, C. D., Sun, C. C., ... & Brown, D. E. (2015). Practical murine hematopathology: a comparative review and implications for research. *Comparative medicine*, 65(2), 96-113.
- Pawankar R, GW Canonica, ST Holgate, dan RF Lockey, 2011. Introduction and Executive Summary: Establishing the need to treat Allergic Diseases as a Global Public Health issue. In: *WAO White Book on Allergy*.
- Pawankar R, GW Canonica, ST Holgate, RF Lockey, dan MS Blaiss, 2013. The WAO White Book on Allergy Executive Summary Update 2013. In: *WAO White Book on Allergy*.

- Parslow, T.G., S.P Daniel., T.I Abba., and I.B John, 2001. *Medical Immunology (10th ed)*. United state: Large medical books/Mc graw hill medical publishingdivision.
- Price, K.S. and R.G Hamilton, 2007. Anaphylactoid reactions in two patients after omalizumab administration after successful long-term therapy. *Allergy Asthma Proc.* 28, 313–319.
- Provencher B.A., NE Everds., K. L Zimmerman., D. M Moore., S. A Smith, and K.F Barnhart, 2010. Hematology of laboratory animals. Schalm's veterinary *hematology*, 6th edn. Blackwell Publishing Ltd, Iowa, 852-887.
- Renaninggalih R, K Mulky, dan R Esti, 2014. Karakterisasi dan Pengujian Aktivitas Penolak nyamuk minyak atsiri daun kecombrang (*Etilingera elatior* Jack .R.Smith). *Jurnal teknologi dan kesehatan.* 4(1), 483- 490.
- Rifa'i, M, 2013. *Imunologi dan Alergi Hipersensitif: Imunologi untuk Biologi Kedokteran*. Universitas Brawijaya Press, 94-110
- Riswanto, 2013. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi*. Yogyakarta : Alfabedika dan Kanal Medika.
- Robinson DS, M Larche and SR Urham, 2004. Tregs and Allergic Disease, *J Clin Invest.* 114;1389–1397
- Rohkyani I, dan T Suryani, 2015. Aktivitas antioksidan dan uji organoleptik teh celup batang dan bunga Kecombrang pada variasi suhu pengeringan. Universitas Muhamadiyah Surakarta
- Sinha, J. K., & S Bhattacharya. (2006). *A Text book of Immunology*. Academic Publishers, 340-343.
- Sirait, C.H. (1986). *Telur dan pengolahannya*. Bogor : Pusat penelitian dan pengembangan peternakan.
- Srey C, C Sontimuang, S Thengyai, C Ovatlarnporn, dan P Puttarak, 2014. Anti-glucosidase, anti a- amylase, anti-oxidation, and anti- inflammation activities of *Etilingera elatior* rhizome. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 12, 885- 891.

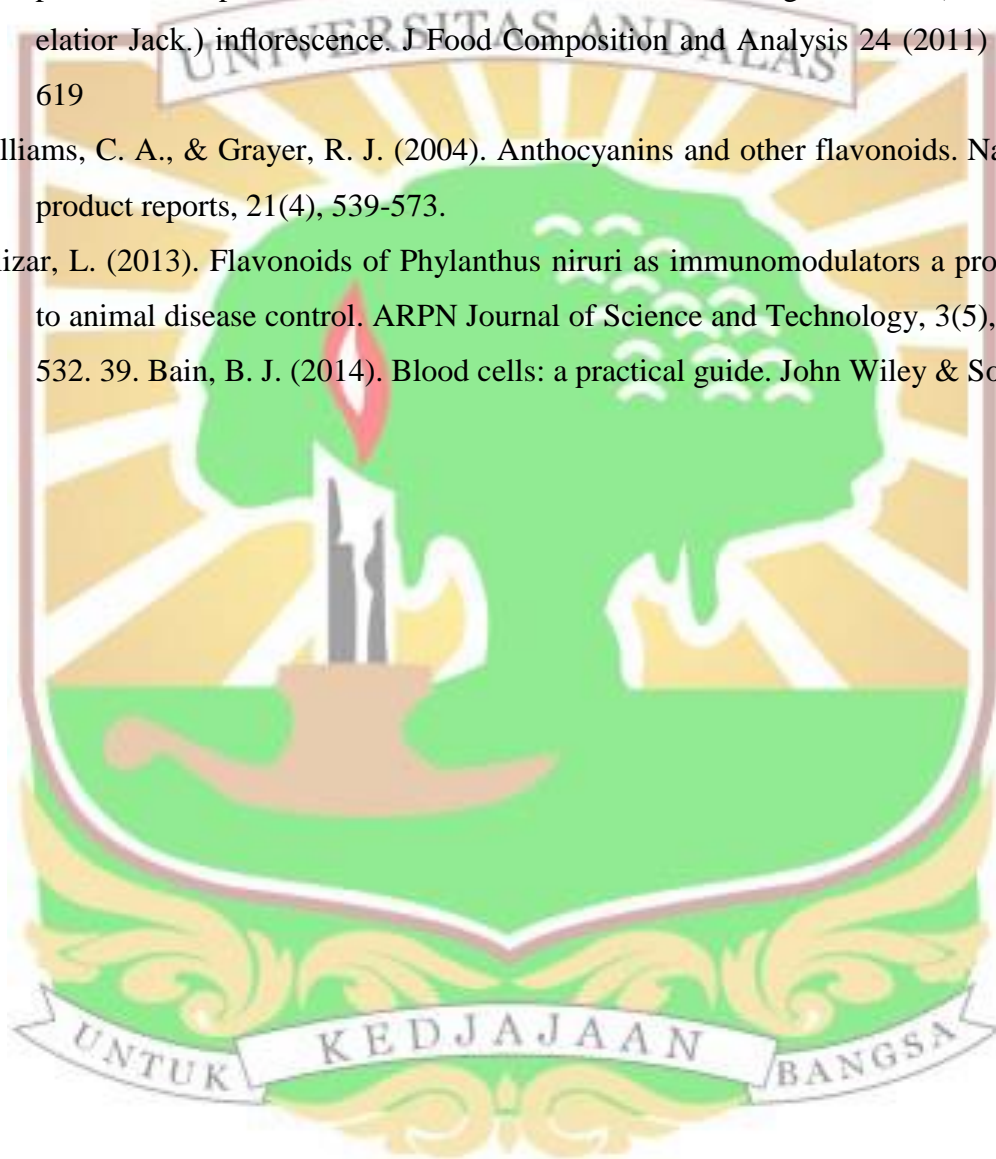
- Schwab CL, R Fan, Q Zheng , LP Myers, P Hebert, SB Pruett, 2005. Modeling and predicting stress-induced immunosuppression in mice using blood parameters. *Toxicol Sci* 83:101 –113.
- Stevens dan D Christine, 2003. *Clinical immunology and serology (A Laboratory perspective)* second edition. Philadelphia : E A. Davis Company
- Subowo, 2010. *Imunologi (Edisi ke II)*. Jakarta : Sagung seto
- Suckow, M. A., KA Stevens., and RP Wilson., 2012. *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents*. Academic Press.
- Sukandar D, N Radiastuti, I Jayanegara, dan A Hudaya, 2010. Karakterisasi Senyawa Aktif Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang (*Eclingera elatior*) Sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Jurnal Sains dan teknologi Valensi* . 2(1), 333- 339.
- Sumadiono, Satria, dan Riana, 2015. *The Epidemiology and Aproach to Management of Food Allergy in Indonesia*. Di persentasi pada APAAACI, 2016.
- Stone, K. D., C Prussin., & D. D Metcalfe , 2010. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), 73-80.
- Svobodova, Z., & Vykusova, B, 1991. *Diagnostics, prevention and therapy of fish diseases and intoxications*. Manual for International Training Course on Fresh-Water Fish Diseases and Intoxications (in Czech). Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Vodnany.
- Tampubolon OT, S Suhatsyah, dan S Sastrapradja, (1983). *Penelitian pendahuluan kimia kecombrang (Nicolaia speciosa Horan)*. Risalah simposium penelitian tumbuhan obat III. Yogyakarta: UGM
- Thompson, E.P, 1990. *Bioscreening of drug, evaluation technique & pharmacology*. New York: Weinheim Basel Cambridge.
- Vogel, H.G, 2002. *Drug discovery and evaluation pharmacological assay (Second Edition)*. Germany: Springer-verlag berlin heidelberg.
- Ward, J. M., S Cherian., and MA Linden, 2018. *Hematopoietic and Lymphoid Tissues*. In *Comparative Anatomy and Histology* (365-401). Academic Press.

WAO, 2017. Rhinitis: Synopsis. Retrieved May 24, 2017, from World Allergy Organization:http://www.worldallergy.org/professional/allergic_diseases_center/rhinitis/rhinitissynopsis.php

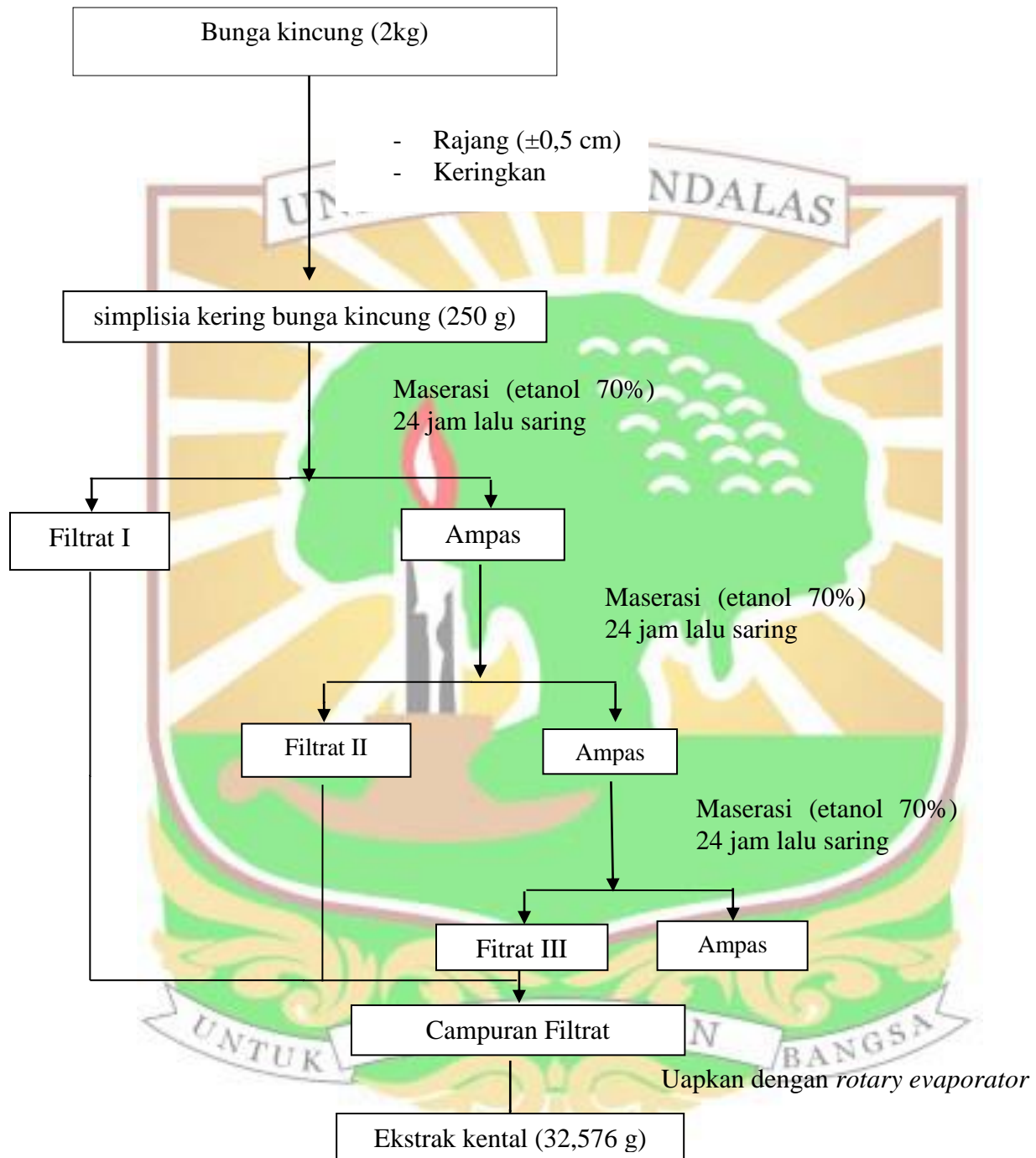
Wijekoon MMJO, R Bhat, dan AA Karim, 2010. Effect of extraction solvents on the phenolic compounds and antioxidant activities of bunga kantan (*Etilingera elatior* Jack.) inflorescence. *J Food Composition and Analysis* 24 (2011) 615–619

Williams, C. A., & Grayer, R. J. (2004). Anthocyanins and other flavonoids. *Natural product reports*, 21(4), 539-573.

Zalizar, L. (2013). Flavonoids of *Phyllanthus niruri* as immunomodulators a prospect to animal disease control. *ARPN Journal of Science and Technology*, 3(5), 529-532. 39. Bain, B. J. (2014). *Blood cells: a practical guide*. John Wiley & Sons.

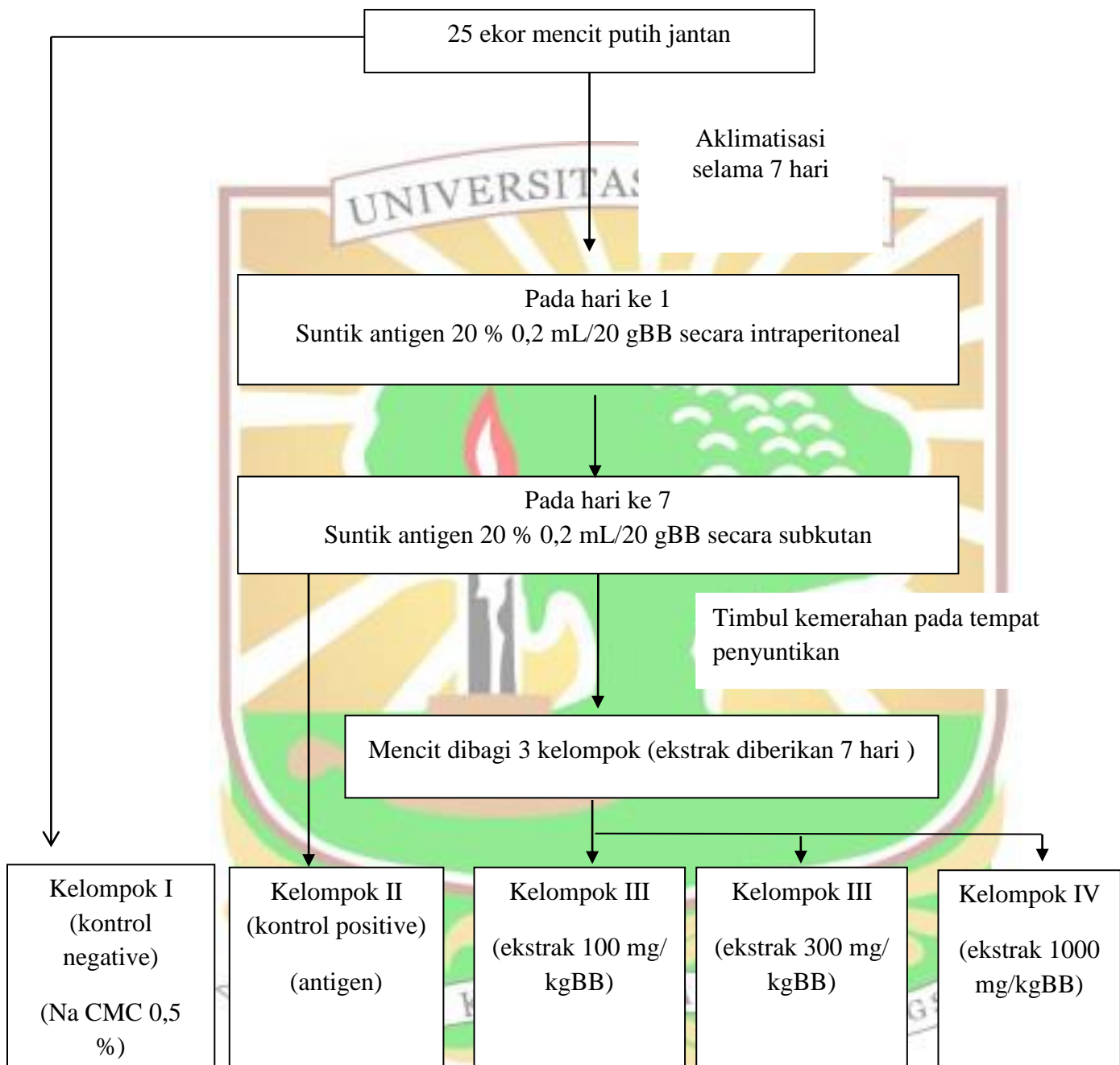


Lampiran 1. Skema kerja penelitian

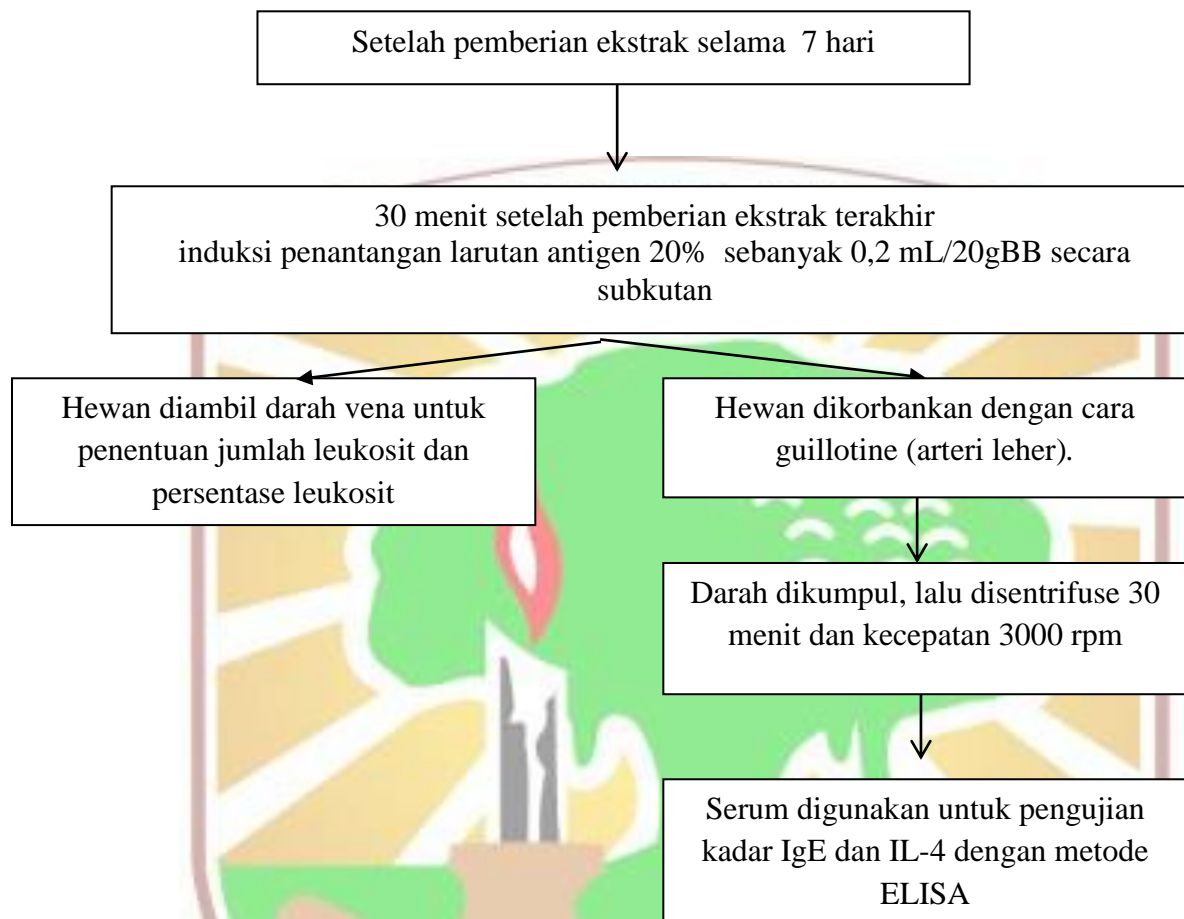


Gambar 7. Skema kerja pembuatan ekstrak etanol bunga kincung

Lampiran 1. Lajutan



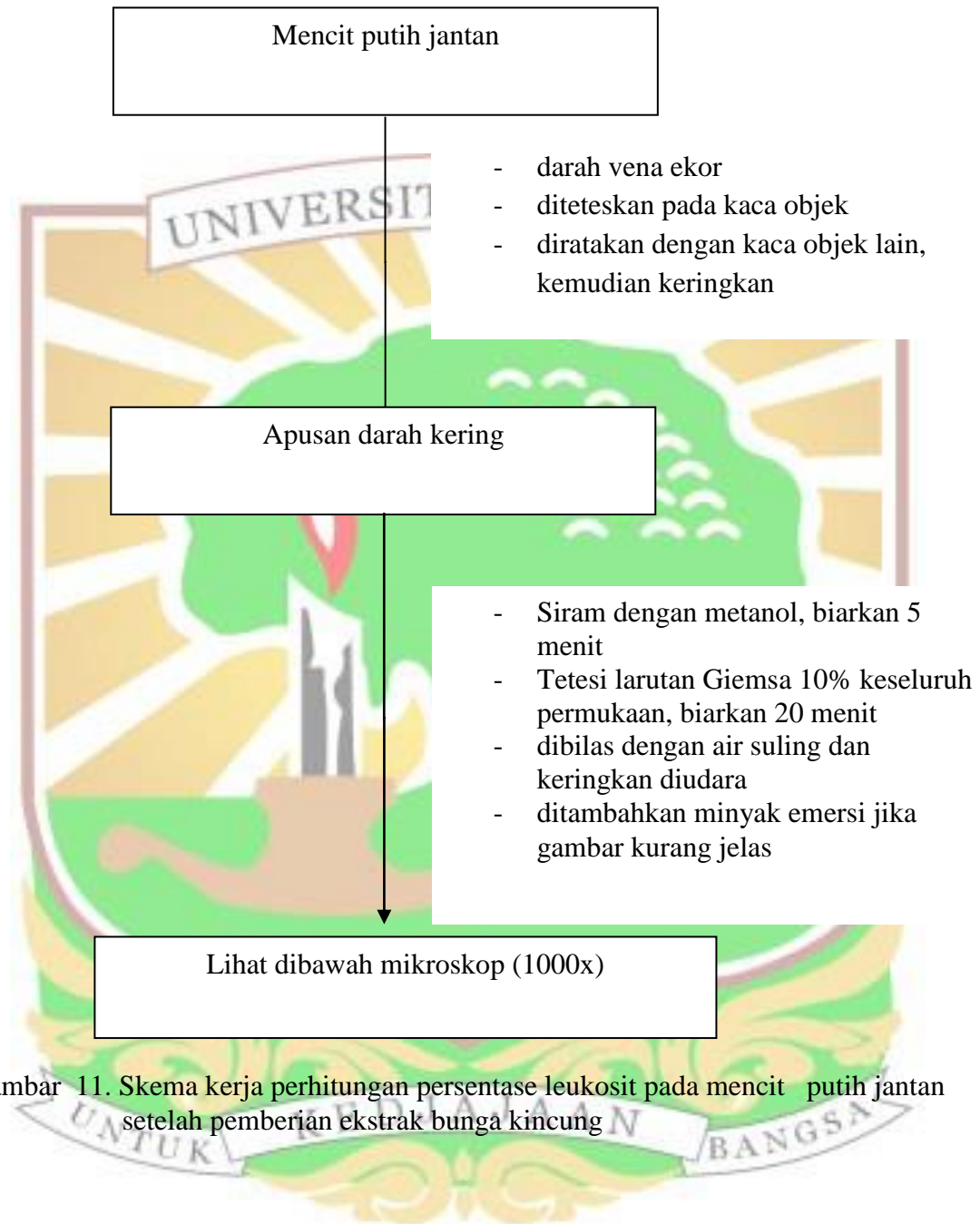
Gambar 8. Skema kerja pembuatan putih jantan alergi dan pemberian sediaan uji

Lampiran 1. Lanjutan

Gambar 9. Skema kerja proses pengambilan serum untuk pengujian kadar IgE dan IL-4

Lampiran 1. Lanjutan

Gambar 10. Skema kerja penentuan jumlah total leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Lampiran 1. Lanjutan

Gambar 11. Skema kerja perhitungan persentase leukosit pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Lampiran 1. Lanjutan

Gambar 12. Skema kerja perhitungan persentase sel basofil pada mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Lampiran 2. Hasil penelitian

Tabel 2. Hasil penentuan rendemen ekstrak bunga kincung

Sampel kering (gram)	Ekstrak yang diperoleh	Rendemen %
250 g	32,576 g	14,11

Tabel 3. Deskripsi tata nama ekstrak bunga kincung

No.	Deskripsi Nama	Nama
1	Nama Ekstrak	Extractum Flos (<i>Etilingera elatior</i> (Jack) R.M.Sm.) (Ekstrak Kental Bunga Kincung)
2	Nama Latin Tumbuhan	<i>Etilingera elatior</i> (Jack) R.M.Sm.
3	Bagian Tumbuhan yang digunakan	Bunga
4	Nama Indonesia Tumbuhan	Bunga Kecombrang (Farmakope Herbal Indonesia)

Tabel 4. Hasil penentuan organoleptis ekstrak bunga kincung

No.	Pemeriksaan	Ekstrak bunga kincung
1	Pemerian <ul style="list-style-type: none"> • Konsistensi • Warna • Bau • Rasa 	Kental Coklat kehitaman Khas Asam

Lampiran 2. Lanjutan

Tabel 5. Hasil penentuan susut pengeringan ekstrak bunga kincung

No	Berat botol timbang (W_0) (g)	Berat botol timbang + ekstrak awal (W_1) (g)	Berat botol timbang + ekstrak akhir (W_2) (g)	Susut pengeringan (%)
1.	16,0717	17,0757	17,0121	6,35
2.	17,8190	18,8280	18,7530	7,48
3.	17,7536	18,7566	18,6954	6,12
Rata-rata \pm SD				6,65 \pm 0,727

Tabel 6. Hasil penetapan kadar abu ekstrak bunga kincung

No	Berat Krus kosong (W_0) (g)	Berat Krus + ekstrak (W_1) (g)	Berat Krus + hasil abu (W_2) (g)	Kadar Abu Total (%)
1	36,5519	38,5613	36,6429	4,52
2	36,6157	38,6157	36,7172	5,10
3	36,4005	38,4017	36,4825	4,09
Rata-rata \pm SD				4,57 \pm 0,506

Tabel 7. Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam ekstrak bunga kincung

No	Berat Krus kosong (W_0) (g)	Berat Krus + ekstrak (W_1) (g)	Berat Krus Kosong + hasil pemijaran (W_2) (g)	Kadar abu tidak larut asam (%)
1	36,5938 g	38,5937 g	36,5941 g	0,015
2	36,6152 g	38,6157 g	36,6159 g	0,035
3	36,4003 g	38,4017 g	36,4007 g	0,020
Rata-rata \pm SD				0,02 \pm 0,01

Lampiran 2. Lanjutan

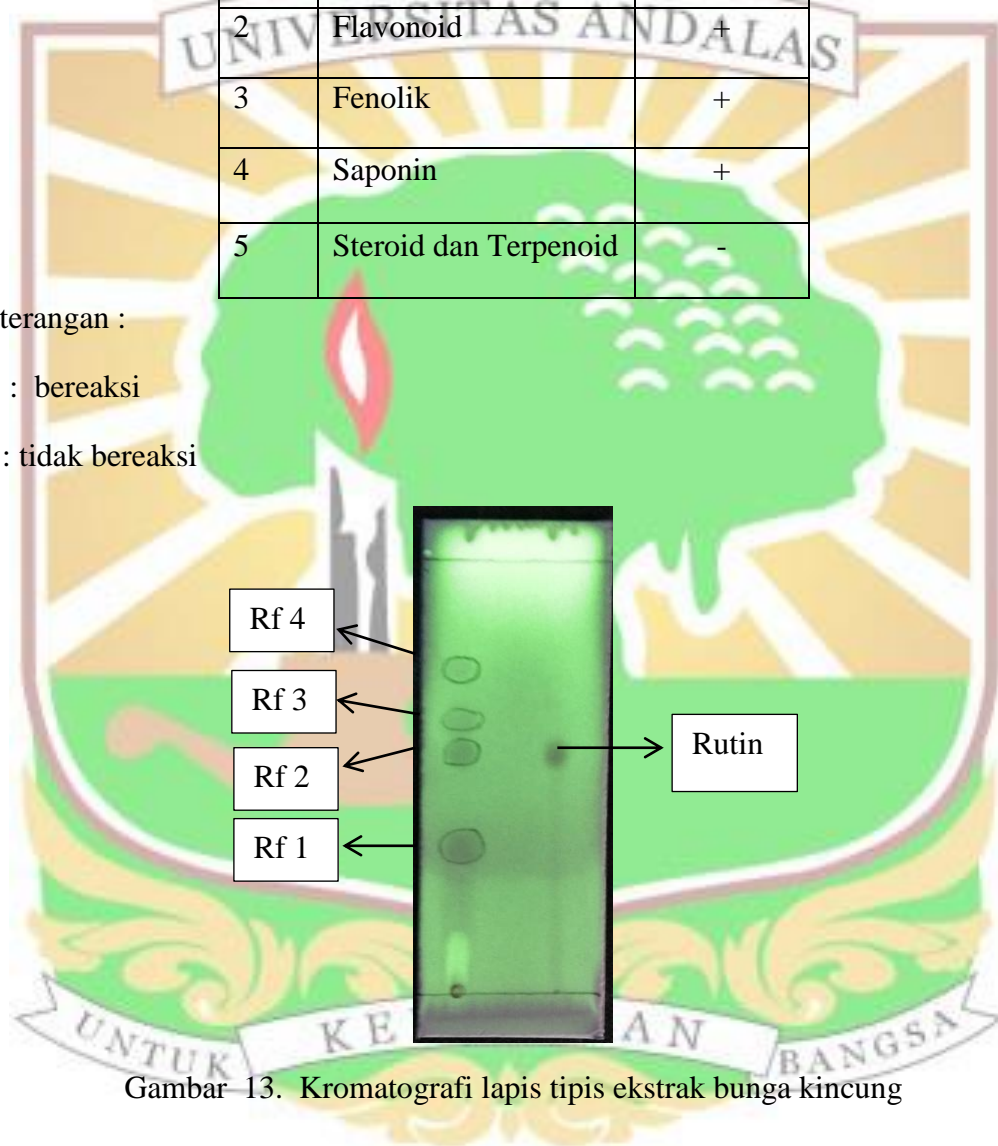
Tabel 8. Uji fitokimia ekstrak bunga kincung (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm.)

No	Pemeriksaan	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Fenolik	+
4	Saponin	+
5	Steroid dan Terpenoid	-

Keterangan :

(+) : bereaksi

(-) : tidak bereaksi



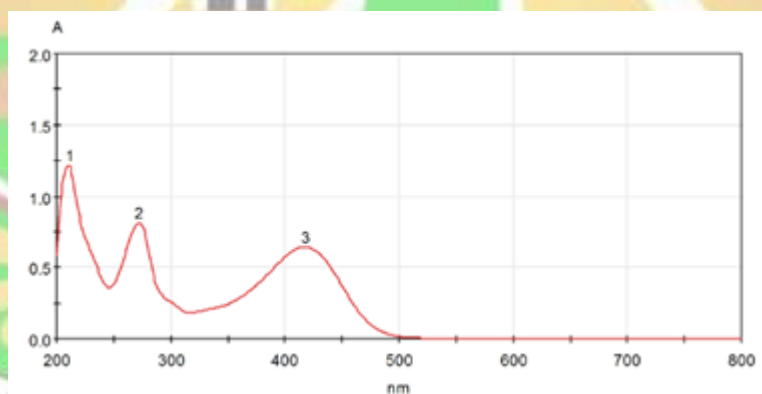
Gambar 13. Kromatografi lapis tipis ekstrak bunga kincung

Tabel 9. Nilai Rf Kromatografi lapis tipis ekstrak bunga kincung

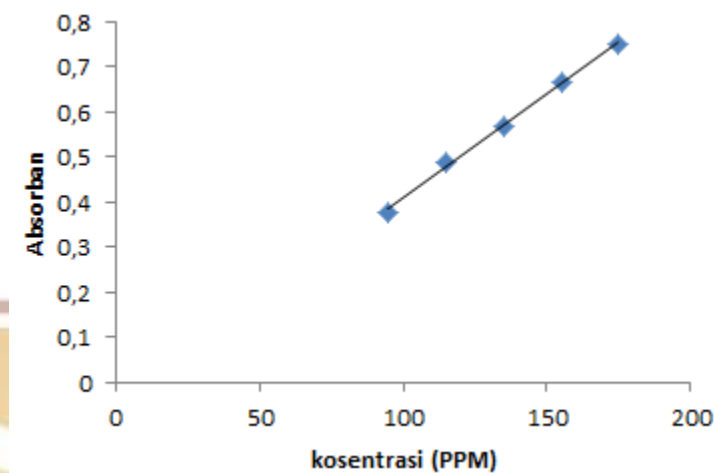
Rf ekstrak bunga kincung	Rf pembanding (rutin)
1. 0,246	0,44
2. 0,446	
3. 0,476	
4. 0,615	

Tabel 10. Data hasil pengukuran absorbansi pembanding rutin dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 418 nm

Konsentrasi (ppm)	Absorban
95	0,378
115	0,486
135	0,569
155	0,666
175	0,752



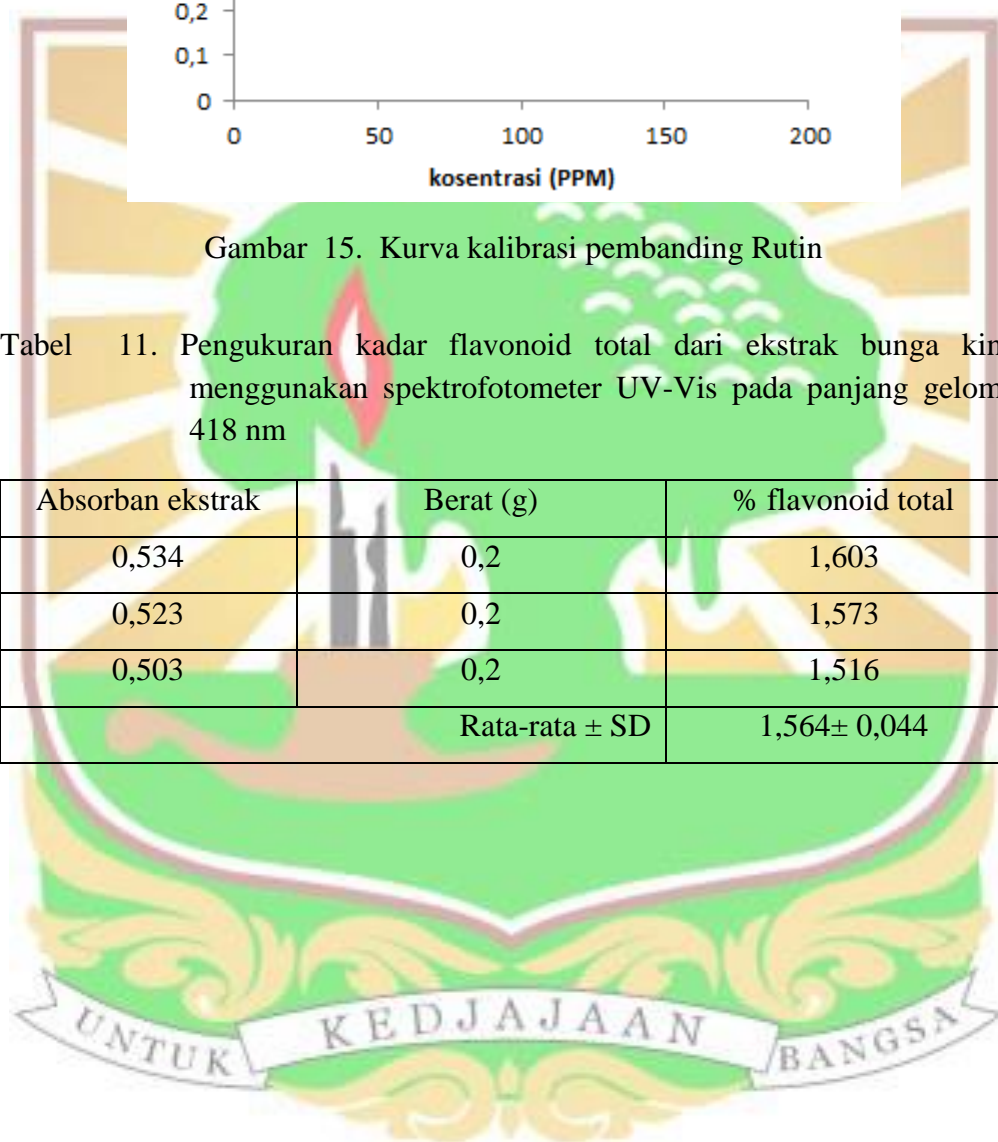
Gambar 14. Pengukuran Panjang gelombang maksimum rutin



Gambar 15. Kurva kalibrasi pembanding Rutin

Tabel 11. Pengukuran kadar flavonoid total dari ekstrak bunga kincung menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 418 nm

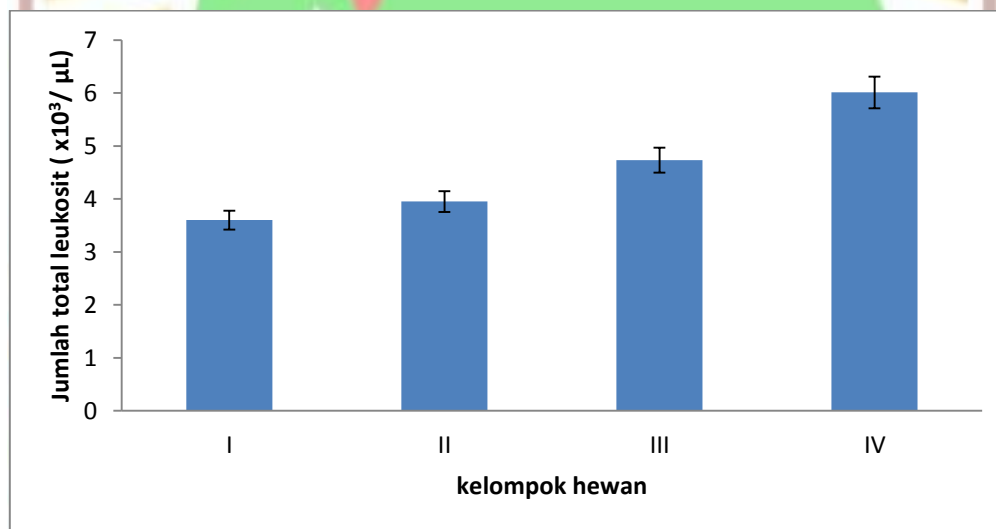
Absorban ekstrak	Berat (g)	% flavonoid total
0,534	0,2	1,603
0,523	0,2	1,573
0,503	0,2	1,516
Rata-rata \pm SD		1,564 \pm 0,044



Lampiran 2. Lanjutan

Tabel 10. Jumlah leukosit total mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm)

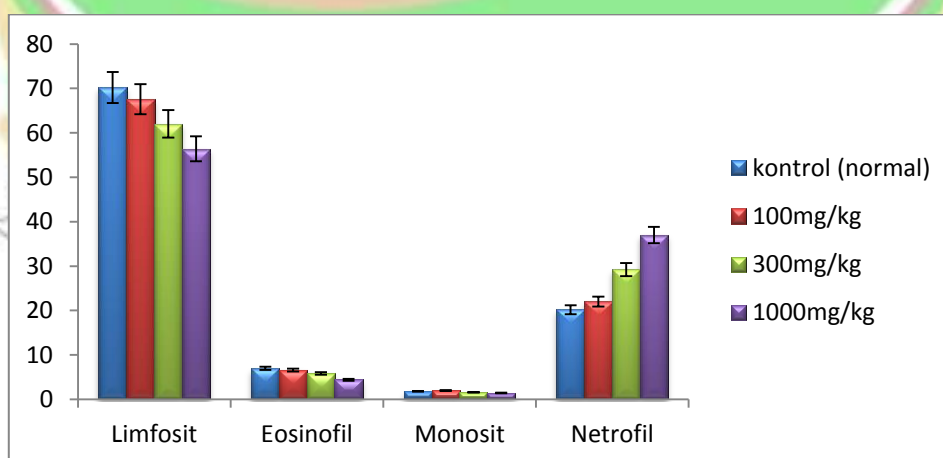
Kelompok perlakuan	Jumlah leukosit ($\times 10^3 / \mu\text{L}$)					Rata rata
	I	II	III	IV	V	
I. Kontrol Negatif (Hewan Normal)	4,05	3,15	3,8	3,4	3,6	3,6 \pm 0,35
II. Dosis 100 mg/kgBB	3,65	4,3	3,95	4,1	3,75	3,95 \pm 0,26
II. Dosis 300 mg/kgBB	4,3	4,9	4,55	5,3	4,6	4,73 \pm 0,38
V. Dosis 1000 mg/kgBB	6,05	5,9	5,75	5,25	7,1	6,01 \pm 0,68



Gambar 16. Grafik Jumlah leukosit total mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Tabel 11. Persentase sel leukosit menci setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Kelompok perlakuan	No	Persen sel leukosit (%)			
		Limfosit	Eosinofil	Monosit	Neutrofil
Kelompok Kontrol (normal)	1	70	7	4	19
	2	71	5	2	22
	3	69	7	3	21
	4	67	9	4	20
	5	73	5	4	18
Rata-rata ± SD		70,0±2,23	6,6±1,67	3,4±0,89	20,0±1,58
Kelompok Dosis 100 mg/kgBB	1	71	6	4	19
	2	65	8	5	22
	3	69	7	3	21
	4	68	6	3	23
	5	65	5	3	27
Rata-rata ± SD		67,6 ±2,60	6,4± 1,14	3,6±1,07	22,4±3,39
Kelompok Dosis 300 mg/kgBB	1	63	5	2	30
	2	64	6	3	27
	3	62	5	4	29
	4	60	6	3	31
	5	61	7	3	29
Rata-rata ± SD		62,0 ±1,58	5,8±0,83	3,0±1,03	29,2±1,48
Kelompok Dosis 1000mg/kg BB	1	51	4	3	42
	2	58	3	2	37
	3	68	4	2	26
	4	51	4	3	42
	5	56	6	1	37
Rata-rata ± SD		56,8±6,97	4,2±1,09	2,2±1,07	36,8±6,53

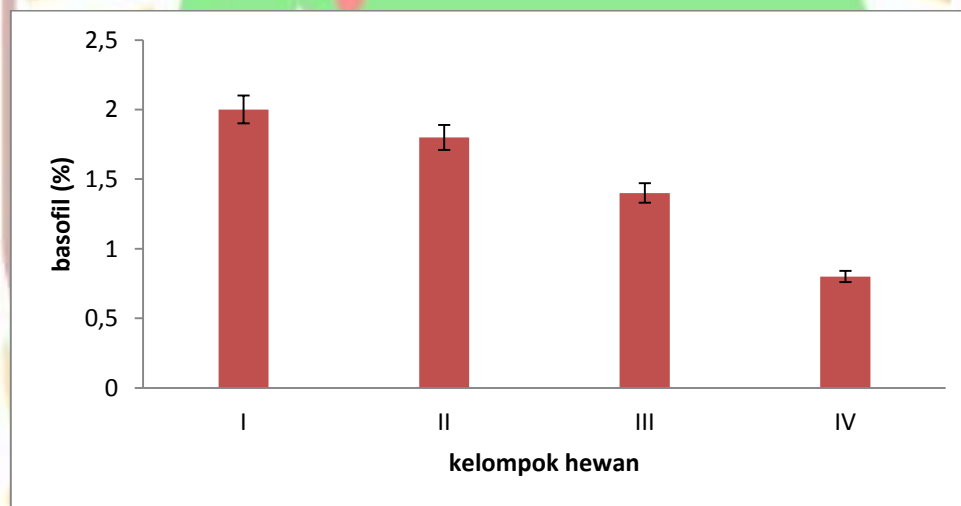


Gambar 17. Grafik persentase leukosit menci putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Lampiran 2. Lanjutan

Tabel 12. Persentase jumlah sel basofil menciit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Kelompok perlakuan	Persen sel basofil (%)					% Mean±SD
	1	2	3	4	5	
I. Kontrol Negatif (Normal)	2	1	2	3	2	2,0± 0,70
II. Dosis 100 mg/Kg BB	1	3	2	1	2	1,8±0,83
III. Dosis 300 mg/Kg BB	1	2	2	1	1	1,4±0,57
IV. Dosis 1000 mg/Kg BB	1	0	1	1	1	0,8±0,44

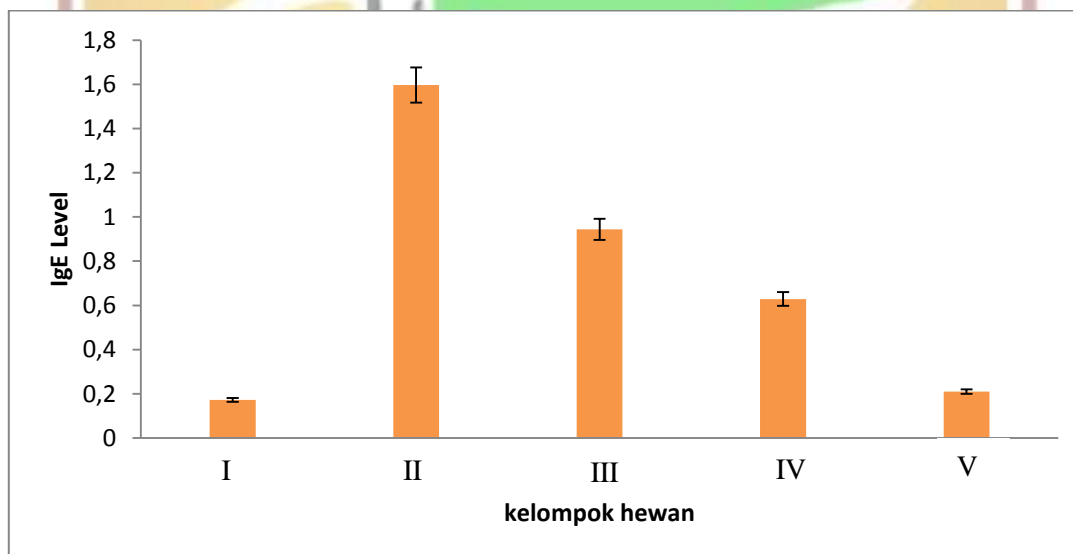


Gambar 18. Grafik persentase jumlah sel basofil menciit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Lampiran 2. Lanjutan

Tabel 13. Kadar IgE mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Kelompok perlakuan	Kadar IgE ($\mu\text{g}/\text{mL}$)					Rata rata
	1	2	3	4	5	
I. Kontrol Negatif (Hewan Normal)	0,213	0,120	0,251	0,180	0,105	0,173 \pm 0,06
II. Kontrol Positif (antigen)	1,527	1,790	1,703	1,527	1,440	1,597 \pm 0,14
III. Dosis 100 mg/kgBB	0,835	1,105	0,730	0,992	1,06	0,944 \pm 0,15
IV. Dosis 300 mg/kgBB	0,884	0,636	0,630	0,452	0,544	0,629 \pm 0,16
V. Dosis 1000 mg/kgBB	0,188	0,202	0,218	0,257	0,188	0,210 \pm 0,02

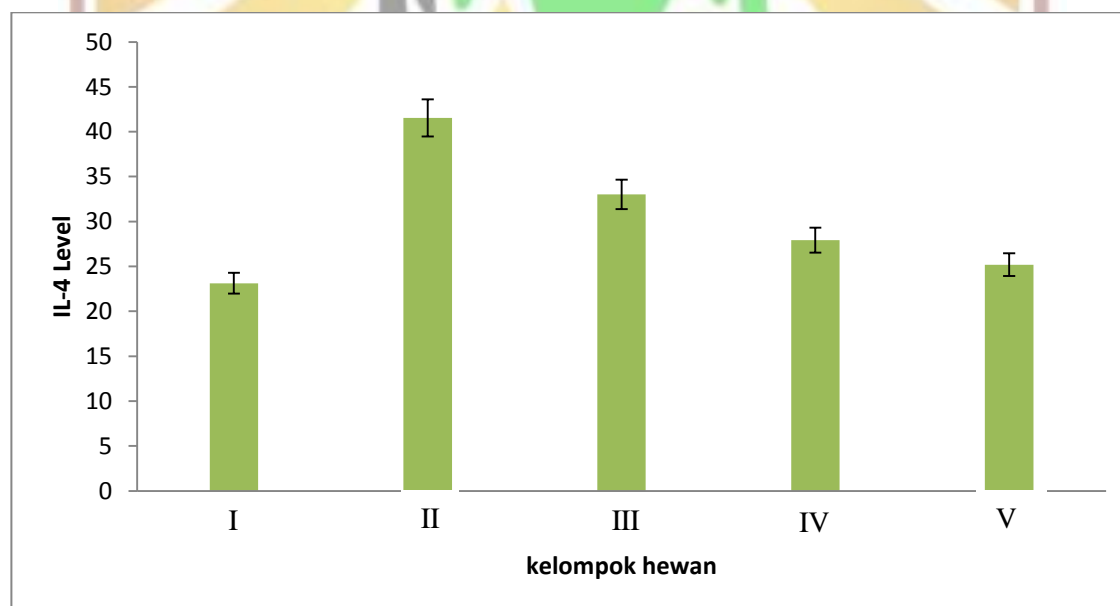


Gambar 19. Grafik kadar IgE mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Lampiran 2. Lanjutan

Tabel 14. Kadar IL-4 mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Kelompok perlakuan	Kada IL-4 (ng/L)					Rata rata
	1	2	3	4	5	
1. Kontrol Negatif (Hewan Normal)	23,571	22,226	24,915	23,571	22,226	23,130±1,36
2. Kontrol Positif (antigen)	33,656	51,809	37,690	38,277	54,910	41,538±7,33
3. Dosis 100 mg/kgBB	34,929	36,814	32,311	37,690	39,522	33,024±2,94
4. Dosis 300 mg/kgBB	26,260	26,932	37,690	29,622	27,960	27,933±1,39
5. Dosis 1000 Mg/kg BB	24,915	26,260	26,932	22,226	26,260	25,192±1,80



Gambar 20. Grafik kadar IL-4 mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Lampiran 3. Uji statistik

Tabel 15. Hasil uji normalitas jumlah leukosit total mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga

Kelompok hewan	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
I	,995	5	,994
II	,970	5	,876
III	,954	5	,768
IV	,918	5	,516

Tabel 16. Hasil uji homogenitas jumlah leukosit total mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,773	3	16	,526

Tabel 19. Hasil uji Anova satu arah jumlah leukosit total mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

	Nilai total kuadrat	Df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	17,122	3	5,707	28,582	,000
Dalam kelompok	3,195	16	,200		
Total	20,317	19			

Tabel 17. Hasil uji Duncan jumlah leukosit total mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Kelompok hewan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
I	5	3,6000		
II	5	3,9500		
III	5		4,7300	
IV	5			6,0100
Sig.		,233	1,000	1,000

Lampiran 3. Lanjutan

Tabel 18. Hasil uji normalitas persentase leukosit mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

	Kelompok hewan	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Limfosit	I	,999	5	1,000
	II	,902	5	,421
	III	,987	5	,967
	IV	,866	5	,251
Netrofil	I	,987	5	,967
	II	,956	5	,777
	III	,956	5	,777
	IV	,821	5	,119
Monosit	I	,771	5	,046
	II	,771	5	,046
	III	,883	5	,325
	IV	,881	5	,314
Eosinofil	I	,881	5	,314
	II	,961	5	,814
	III	,881	5	,314
	IV	,961	5	,814

Tabel 19. Hasil uji homogenitas jumlah leukosit total mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Limfosit	2,662	3	16	,083
Netrofil	1,878	3	16	,174
Monosit	,579	3	16	,637
Eosinofil	,878	3	16	,473

Lampiran 3. Lanjutan

Tabel 20. Hasil uji Anova satu arah persentase leukosit mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

		Nilai total	Df	Rata-tata	F	Sig.
		kuadrat		kuadrat		
Limfosit	Antar kelompok	523,800	3	174,600	11,086	,000
	Dalam kelompok	252,000	16	15,750		
	Total	775,800	19			
Netrofil	Antar kelompok	855,000	3	285,000	20,285	,000
	Dalam kelompok	224,800	16	14,050		
	Total	1079,800	19			
Monosit	Antar kelompok	5,750	3	1,917	2,738	,078
	Dalam kelompok	11,200	16	,700		
	Total	16,950	19			
Eosinofil	Antar kelompok	14,800	3	4,933	3,235	,040
	Dalam kelompok	24,400	16	1,525		
	Total	39,200	19			

Tabel 21. Hasil uji lanjut Duncan limfosit mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Kelompok hewan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
IV	5	56,8000	
III	5	62,0000	
II	5		67,6000
I	5		70,0000
Sig.		,055	,353

Lampiran 3. Lanjutan

Tabel 22. Hasil uji lanjut Duncan netrofil mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Kelompok hewan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
I	5	20,0000		
II	5	22,4000		
III	5		29,2000	
IV	5			36,8000
Sig.		,326	1,000	1,000

Tabel 23. Hasil uji lanjut Duncan monosit mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Kelompok hewan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
IV	5	2,2000	
III	5	3,0000	3,0000
II	5		3,4000
I	5		3,6000
Sig.		,150	,299

Tabel 24. Hasil uji lanjut Duncan eosinofil mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Kelompok hewan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
IV	5	4,4000	
III	5	5,8000	5,8000
II	5		6,4000
I	5		6,6000
Sig.		,092	,346

Lampiran 3. Lanjutan

Tabel 25. Hasil uji normalitas persentase jumlah basofil mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Kelompok hewan	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
I	,883	5	,325
II	,881	5	,314
III	,684	5	,056
IV	,552	5	,060

Tabel 29. Hasil uji homogenitas persentase jumlah basofil mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,653	3	16	,593

Tabel 26. Hasil uji anova satu arah persentase jumlah basofil mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

	Jumlah total kuadrat	Df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	4,200	3	1,400	3,294	,048
Dalam kelompok	6,800	16	,425		
Total	11,000	19			

Tabel 27. Hasil uji lanjut Duncan jumlah basofil mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
IV	5	,8000	
III	5	1,4000	1,4000
II	5		1,8000
I	5		2,0000
Sig.		,165	,186

Lampiran 3. Lanjutan

Tabel 28. Hasil uji normalitas kadar IgE mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Kelompok hewan	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Kontrol negatif	,942	5	,677
Kontrol positif	,913	5	,483
100 mg/kgBB	,927	5	,578
300 mg/kgBB	,923	5	,552
1000 mg/kgBB	,854	5	,206

Tabel 29. Hasil uji homogenitas kadar IgE mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,776	4	20	,055

Tabel 30. Hasil uji anova kadar IgE mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

	Nilai total kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	6,929	4	1,732	113,824	,000
Dalam kelompok	,304	20	,015		
Total	7,234	24			

Tabel 31. Hasil uji lanjut Duncan kadar IgE mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Kelompok hewan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol negatif	5	,17380			
1000 mg/kgBB	5	,21060			
300 mg/kgBB	5		,62920		
100 mg/kgBB	5			,94440	
kontrol positif	5				1,59740
Sig.		,642	1,000	1,000	1,000

Lampiran 3. Lanjutan

Tabel 32. Hasil uji normalitas kadar IL-4 mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Kelompok hewan	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
kontrol negatif	,881	5	,314
kontrol positif	,861	5	,233
100 mg/kgBB	,982	5	,943
300 mg/kgBB	,787	5	,064
1000 mg/kgBB	,845	5	,180

Tabel 33. Hasil uji homogenitas kadar IL-4 mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10,497	4	20	,000

Tabel 34. Hasil uji anova kadar IL-4 mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

	Jumlah total kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	1348,759	4	337,190	13,685	,000
Dalam kelompok	492,792	20	24,640		
Total	1841,551	24			

Tabel 39. Hasil uji lanjut Duncan kadar IL-4 mencit putih jantan hipersensitivitas setelah pemberian ekstrak bunga kincung

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol negatif	5	23,30180		
1000 mg/kgBB	5	25,31860		
300 mg/kgBB	5	29,69280		
100 mg/kgBB	5		36,25320	
kontrol positif	5			43,26840
Sig.		,067	1,000	1,000

Lampiran 4. Contoh Perhitungan

1. Susut pengeringan

$$W_0 = 17,8190$$

$$W_1 = 18,8280$$

$$W_2 = 18,7530$$

$$SP = \frac{(W_1 - W_0) - (W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100\%$$

Keterangan : W_0 = Berat botol timbang kosong

W_1 = Berat botol timbang + ekstrak

W_2 = Berat botol timbang + hasil pengeringan

$$\begin{aligned} SP &= \frac{(18,828 - 17,819) - (18,753 - 17,819)}{(18,828 - 17,819)} \times 100\% \\ &= 7,48\% \end{aligned}$$

2. Kadar abu

$$W_0 = 36,5519$$

$$W_1 = 38,5613$$

$$W_2 = 36,6429$$

$$\text{Kadar abu} = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

Keterangan : W_0 = Berat krus kosong

W_1 = Berat krus + ekstrak

W_2 = Berat krus + hasil pemijaran

$$\begin{aligned} KA &= \frac{36,6429 - 36,5519}{38,5613 - 36,5519} \times 100\% \\ &= 4,52\% \end{aligned}$$

3. Contoh perhitungan jumlah total leukosit

$$\text{Jumlah total leukosit} = \text{jumlah sel leukosit} \times \frac{20}{0,4}$$

$$\text{Jumlah total leukosit} = 81 \times \frac{20}{0,4} = 4050 (4,05 \times 10^{-3})$$

Lampiran 4. (lanjutan)

4. Contoh perhitungan nilai R_f pada pola kromatografi dengan sampel uji ekstrak bunga kincung

Jarak noda yang ditempuh oleh sampel (a) = 1,6 cm

Jarak yang ditempuh oleh pelarut (b) = 6,5 cm

$$R_f = \frac{a}{b}$$

$$R_f = \frac{1,6 \text{ cm}}{6,5 \text{ cm}} = 0,246$$

5. Contoh perhitungan kadar flavonoid total ekstrak bunga kincung

$$\% = \frac{C \times V \times 10^{-6}}{W} \times 100\%$$

C: ($y=0,0046x - 0,0562$)

V: 25 ml

Abs: 0,534

W: 0,2 gram

$$C: 0,534 = 0,0046x - 0,0562$$

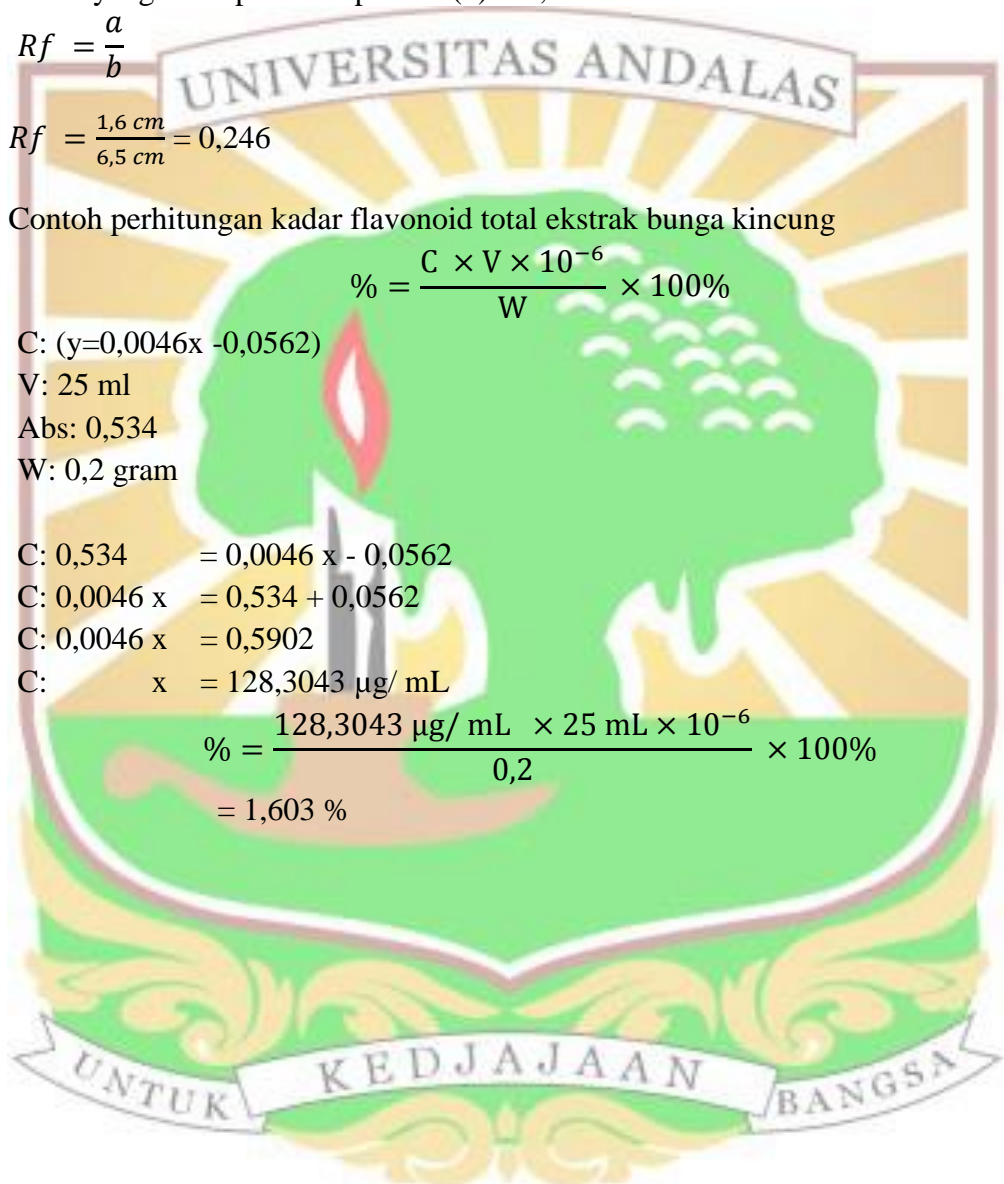
$$C: 0,0046x = 0,534 + 0,0562$$

$$C: 0,0046x = 0,5902$$


$$C: x = 128,3043 \mu\text{g/ mL}$$

$$\% = \frac{128,3043 \mu\text{g/ mL} \times 25 \text{ mL} \times 10^{-6}}{0,2} \times 100\%$$

$$= 1,603 \%$$



Lampiran 5. Gambar Hasil Penelitian



HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)
 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar
 Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. *811 e-mail: nas_herb@yahoo.com;
herbariumandaunand@gmail.com

Nomor : 486/K-ID/ANDA/XII/2019
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
 Relin Yesika
 Di
 Tempat


Dengan hormat,
 Sehubungan dengan surat mengenai bantuan untuk "Identifikasi Tumbuhan" di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, atas nama:


Nama : Relin Yesika
 NIM : 1821012019
 Instansi : Pasca Sarjana Farmasi Universitas Andalas

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

No	Family	Spesies	Sinonim
1.	Zingiberaceae	<i>Etilingera elatior</i> (Jack) R. M. Sm.	<i>Nicolaita speciosa</i> (Blume) Horan.


Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 10 Desember 2019
 Kepala,

 Dr. Nurainas
 NIP. 196908141995122001



Gambar 21. Surat hasil identifikasi tanaman bunga kincung

Lampiran 5. Lanjutan



KOMITE ETIKA PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ANDALAS
 Jl. Perintis Kemerdekaan Padang 25127
 Telepon: 0751 31746 Fax : 0751 32838 No. Reg : 036/KNEP/2008
 e-mail: fk2unand@pdg.vision.net.id

No: 511/KEP/FK/2019

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
ETHICAL CLEARANCE

Tim Komite Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, dalam upaya melindungi hak azasi dan kesejahteraan subjek penelitian kedokteran/kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian dengan judul:
The Committee of the Research Ethics of the Faculty of Medicine, Andalas University, with regards of the protection of human rights and welfare in medical/health research, has carefully reviewed the research protocol entitled:

“Aktivitas Bunga Kincung (Etlingera Elatior (Jack) R.M.Sm.) terhadap Jumlah Leukosit Total, Persentase Leukosit, Kadar IgE dan IL4 Mencit Putih Jantan yang Alergi”

Nama Peneliti Utama : Relin Yesika
Name of the Investigator

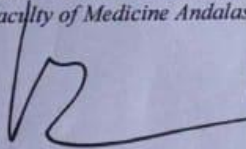

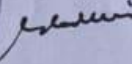
Nama Institusi : Fakultas Farmasi Universitas Andalas
Name of Institution

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut diatas.
and recommended the above research protocol.

Padang, 01 Oktober 2019

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
Dean of Faculty of Medicine Andalas University

Ketua
Chairperson

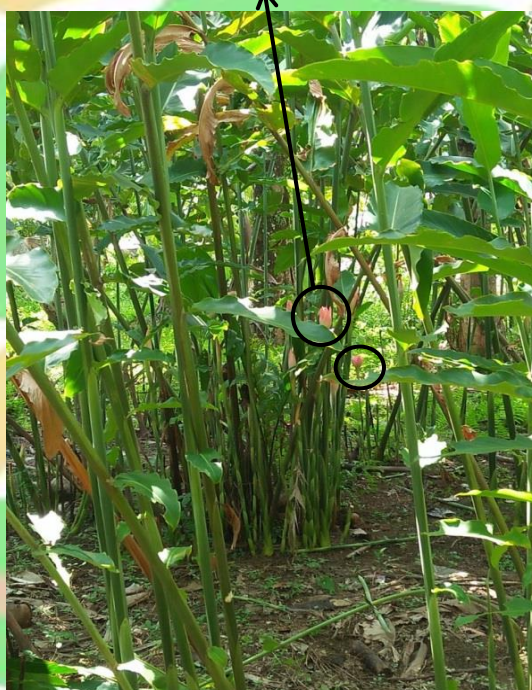




Dr. dr. Wirsma Arif Harahap, SpB(K)-Onk
 NIP. 1966 1021 199412 1 001

Prof. Dr. dr. Eryati Darwin, PA(K)
 NIP. 1953 1109 1982 112 001

Gambar 22. Surat lulus kaji etik

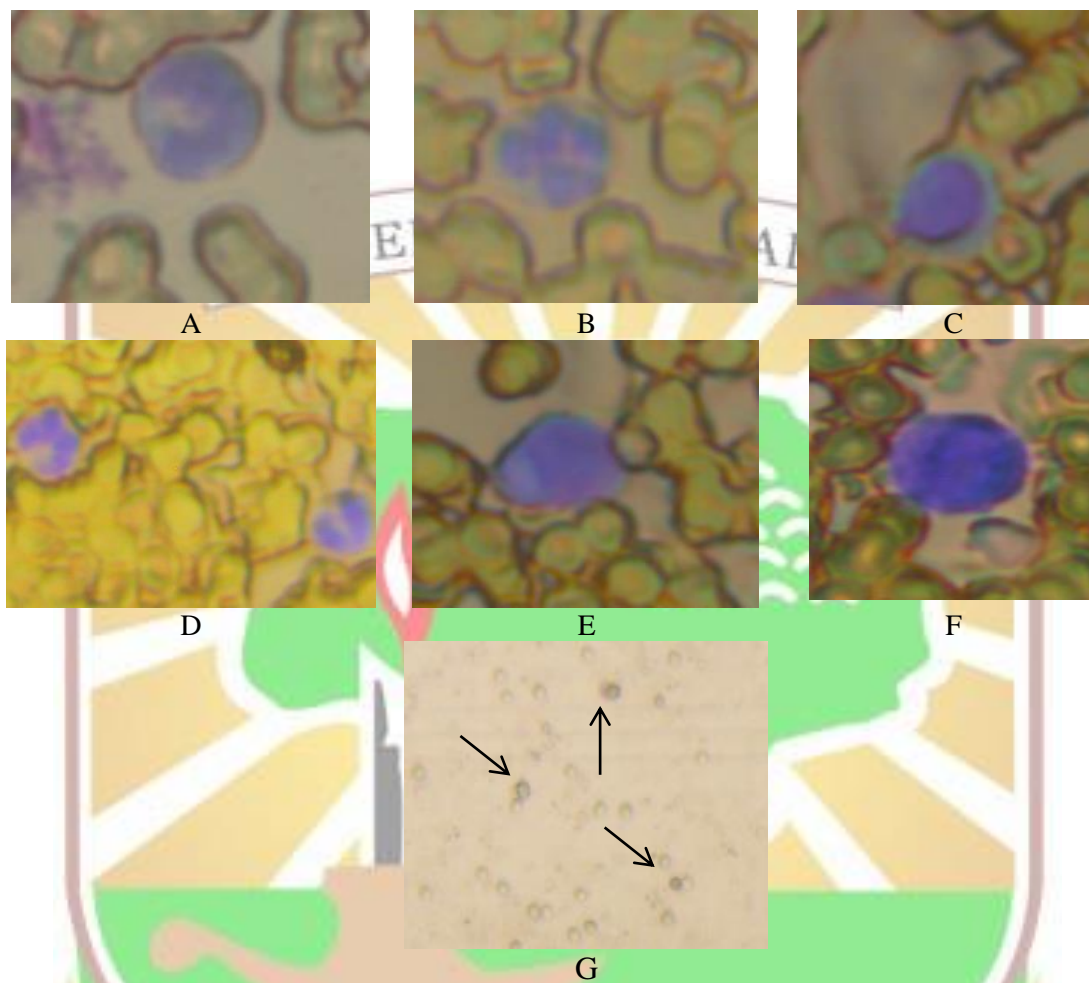
Lampiran 5. Lanjutan



Gambar 23. Bunga kincung



Gambar 24. Simplisia kering bunga kincung

Lampiran 5. Lanjutan

Gambar 25. Gambar sel leukosit mencit putih jantan alergi (A. netrofil batang; B.netrofil segmen; C. Limfosit; D. Eosinofil; E. Monosit; F. Basofil; dan G. Sel Leukosit)



