

**EFEK INFUSA KULIT BATANG PULASARI (*Alyxia reinwardtii* Bl.)  
TERHADAP REAKSI ANAFILAKSIS KUTANEUS AKTIF YANG  
DIINDUKSI OVALBUMIN PADA TIKUS WISTAR JANTAN**

**SKRIPSI**

**Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)  
Program Studi Ilmu Farmasi**



**Oleh:**

**Josephine Susanto**

**NIM : 068114097**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SANATA DHARMA  
YOGYAKARTA**

**2010**

**EFEK INFUSA KULIT BATANG PULASARI (*Alyxia reinwardtii* Bl.)  
TERHADAP REAKSI ANAFILAKSIS KUTANEUS AKTIF YANG  
DIINDUKSI OVALBUMIN PADA TIKUS WISTAR JANTAN**

**SKRIPSI**

**Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)  
Program Studi Ilmu Farmasi**



**Oleh:**

**Josephine Susanto**

**NIM : 068114097**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SANATA DHARMA  
YOGYAKARTA**

**2010**

**Skripsi**

**EFEK INFUSA KULIT BATANG PULASARI (*Alyxia reinwardtii* Bl.)  
TERHADAP REAKSI ANAFILAKSIS KUTANEUS YANG DIINDUKSI  
OVALBUMIN PADA TIKUS WISTAR JANTAN**

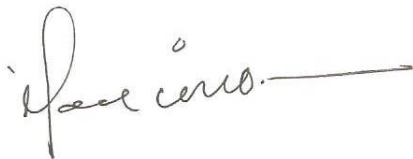
**Yang diajukan oleh :**

**Josephine Susanto**

**NIM : 068114097**

**Telah disetujui oleh :**

**Dosen Pembimbing**



**Drs. Mulyono, Apt.  
Tanggal 26 Januari 2010**


**Pengesahan Skripsi Berjudul**

**EFEK INFUSA KULIT BATANG PULASARI (*Alyxia reinwardtii* Bl.)  
TERHADAP REAKSI ANAFILAKSIS KUTANEUS YANG DIINDUKSI  
OVALBUMIN PADA TIKUS WISTAR JANTAN**

**Oleh :**  
**Josephine Susanto**  
**NIM : 068114097**

**Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi  
Universitas Sanata Dharma  
Pada tanggal**

**Mengetahui,**

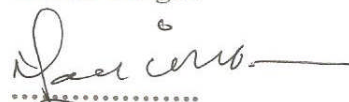
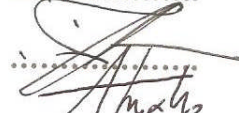

**Fakultas Farmasi  
Universitas Sanata Dharma  
Dekan**  
  
**Rita Suhadi, M.Si., Apt.**

**Dosen Pembimbing : Drs.Mulyono, Apt.**

**Panitia Penguji :**

- 1. Drs.Mulyono, Apt.**
- 2. Ipang Djunarko, S.Si., Apt.**
- 3. Yohanes Dwiatmaka, S.Si., M.Si.**

**Tanda Tangan**

  
.....  
  
.....  
  
.....

# HALAMAN



# PERSEMBAHAN

## FOR MY BELOVED JESUS CHRIST

**Give thanks to You for all You've done in my life..**

*What a Friend we have in Jesus,  
All our sins and griefs to bear.  
What a privilege to carry  
Everything to God in prayer.  
What peace we often forfeit,  
What needless pain we bear,  
All because we do not carry  
Everything to God in prayer.*

**You are my strength, my joy, my world, my endless true  
friend, my Father, my life, my everything...**

**I Love You**

**Ecclesiastes 3:11**



“He has made everything beautiful in its time. He has also set eternity in the hearts of men; yet they cannot fathom what God has done from beginning to end.”



**Spesial thanks**

**For My Lovely**

**Boyfriend,  
Bestfriends,  
&  
My Almamater**

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN**  
**PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPERLUAN AKADEMI**

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya mahasiswa USD :

Nama : Josephine Susanto

Nomor Mahasiswa : 068114097

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma karya ilmiah saya yang berjudul :

“Efek Infusa Kulit Batang Pulasari (*Alyxia reinwardtii* Bl.) terhadap Reaksi Anafilaksis Kutaneus yang Diinduksi Ovalbumin pada Tikus Wistar Jantan”

Dengan demikian saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma hak untuk menyimpan, mengalihkan dalam bentuk media lain, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data, mendistribusikan secara terbatas, dan mempublikasikannya di internet atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya maupun memberikan royalti kepada saya selama mencantumkan nama saya sebagai penulis.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Yogyakarta

Pada tanggal : 15 Januari 2010

Yang menyatakan



Josephine Susanto

## PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala kasih karunia-Nya yang begitu besar, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Infusa Kulit Batang Pulasari (*Alyxia reinwardtii* Bl.) terhadap Reaksi Anafilaksis Kutaneus Aktif yang Diinduksi Ovalbumin pada Tikus Wistar Jantan”.

Skripsi ini disusun sebagai tugas akhir untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Strata satu Farmasi (S. Farm.), program Studi Ilmu Farmasi Fakultas Sanata Dharma, Yogyakarta.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis banyak memperoleh bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, dengan rendah hati, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Rita Suhadi, M. Si., Apt., selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
2. Drs.Mulyono, Apt., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, petunjuk, saran, dan semangat dalam pengerjaan skripsi ini.
3. Ipang Djunarko, S.Si., Apt., selaku dosen penguji yang telah memberikan bimbingan, saran dan kritik yang berguna bagi penulis.
4. Yohanes Dwiatmaka, S.Si., M.Si., selaku dosen penguji yang telah memberikan bimbingan, saran dan kritik yang berguna bagi penulis.
5. Seluruh laboran dan karyawan Fakultas Farmasi USD yang telah membantu penulis selama pelaksanaan penelitian dan penyelesaian administrasi.

6. Papa dan Mama yang begitu banyak memberikan dukungan, nasehat, doa, serta kasih yang tak putus-putusnya, *you're really amazing parents for me.*
7. *My older sister, Lia dan my little brother, Michael, for giving me attentions, supports, advices, and affections.*
8. *My lovely boyfriend, Chan, for giving me spirits, a lot of loves and cares, supports, advices, and helping me much, even when I was doing my research, until this research was done.*
9. Sahabat sejawatku dalam menempuh pendidikan semasa kuliah sejak semester awal hingga saat ini, yang selalu setia menemani dan membantuku dalam penelitian ini, Amelia. *Thank you so much.. you're really my best friend.*
10. Sahabat seperjuanganku dalam suka dan duka, Henny, terima kasih untuk begitu banyak hal yang telah kita lalui dan bisa kita lampau pada akhirnya dengan luar biasa. *Thanks also for helping me handled those naughty mice.*
11. Sahabat seperjuanganku yang banyak memotivasi dan membangkitkan semangatku, Riri. *You're a nice and loyal friend. Thanks for helping me much.*
12. Semua sahabat dan teman yang selalu mendukung dan mendoakanku.
13. Teman-teman angkatan 2006 (khususnya kelas FKK-B), atas doa, semangat, dan kebersamaannya selama ini.
14. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu dan telah membantu dalam pembuatan skripsi ini dengan doa dan dukungannya.



Tak ada gading yang tak retak, demikian pula dalam penyusunan skripsi ini. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan yang ada dalam penyusunan skripsi ini. Untuk itulah penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat membuat karya ini menjadi lebih baik. Akhir kata, semoga penelitian skripsi yang telah dilakukan penulis dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu kefarmasian.

Penulis

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA

Saya menyatakan bahwa sesungguhnya skripsi yang saya tulis ini tidak memuat karya orang lain, kecuali yang telah disebutkan dalam kutipan dan daftar pustaka sebagaimana layaknya karya ilmiah.

Yogyakarta, 16 Januari 2010

Penulis,

A handwritten signature in black ink, consisting of a long horizontal stroke with a vertical line crossing it near the right end, and a short vertical line extending downwards from the intersection.

Josephine Susanto

## INTISARI

Pulasari merupakan tanaman merambat dengan kulit batang putih kehijauan yang digunakan masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional sederhana, salah satunya sebagai komponen jamu anti-asma. Baik asma maupun anafilaksis merupakan bentuk reaksi alergi (hipersensitivitas tipe I) yang melibatkan alergen dan pembentukan IgE.

Penelitian ini bertujuan mempelajari efek anti-anafilaksis infusa kulit batang pulasari pada reaksi anafilaksis kutaneus aktif yang diinduksi ovalbumin pada tikus Wistar jantan.

Penelitian menggunakan metode anafilaksis kutaneus aktif, rancangan penelitian acak lengkap pola searah dengan 6 kelompok uji. Subjek uji disensitisasi dengan ovalbumin 0,1% dalam suspensi  $Al(OH)_3$  10% secara subkutan dengan volume 5 ml/kg BB sebanyak 2 kali dengan selang 7 hari. Pembangkitan reaksi inflamasi dilakukan setelah 7 hari dari sensitisasi kedua. Tikus dicukur punggungnya dan disuntikkan *Evans blue* 1,5% 1,75 ml/kg BB melalui vena ekor. Lima belas menit kemudian diberikan infusa kulit batang pulasari dalam aquadest secara per oral dan 15 menit berikutnya diberikan ovalbumin 5,25% dalam suspensi  $Al(OH)_3$  10% secara subkutan pada punggung tikus untuk pembangkitan reaksi inflamasi. Diameter area pigmentasi pada punggung tikus diukur dari jam ke 0 sampai 8. Data yang diperoleh diuji secara statistik menggunakan GLM (*General Linear Method*) dengan taraf kepercayaan 95 %.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik, infusa kulit batang pulasari memiliki daya anti-anafilaksis yang efeknya meningkat sebanding dengan kenaikan dosis, yaitu dari terbesar hingga terkecil berturut-turut dosis 64 mg/kg BB (59.00%), dosis 32 mg/kg BB (43.75%), dosis 16 mg/kg BB (18.57%), dan dosis 8 mg/kg BB (12.01%). Jadi dapat disimpulkan bahwa infusa kulit batang pulasari mampu menghambat inflamasi imunologis akibat reaksi anafilaksis kutaneus yang diinduksi ovalbumin pada tikus Wistar jantan.

**Kata kunci** : Infusa kulit batang pulasari, hipersensitivitas, reaksi anafilaksis kutaneus aktif, ovalbumin

## ***ABSTRACT***

Pulasari is a creep and spread plant with white greenish cortex that used a lot by Indonesian people as simple traditional medicine, one of them as composition of anti-asthma traditional medicine. Both asthma and anaphylaxis are types of allergic reaction (type I hypersensitivity) involving allergen and IgE formation.

This research's purpose is studying anti-anaphylaxis effect of pulasari cortex infusion for active cutaneous anaphylaxis reaction induced by ovalbumin in male Wistar rats.

Research used active cutaneous anaphylaxis method, randomized research plan with one direction model and six experiment groups. Subjects sensitized by ovalbumin 0,1% in Al(OH)<sub>3</sub>10% suspension with volume 5 ml/kg BB subcutaneous, two act times with seven days intercept. Back rats shavered dan injected with *Evans blue* 1,5% 1,75 ml/kg BB at tail venous. 15 minutes later, pulasari cortex infusion in aquadest given orally, then next 15 minutes, ovalbumin 5,25% in Al(OH)<sub>3</sub> 10% suspension with volume 5 ml/kg BB, injected subcutaneous at back rats for inflammation reaction rising. Diameter of back rats pigmentation area measured from 0 until 8 hours. Obtained data then tested statistically using GLM (General Linear Method) with 95% confidence intervals.

Based on research result and statistic analysis, pulasari cortex infusion have anti-anaphylaxis capacities increasing proportionally as the promoting of doses, from biggest to smallest sequences are 64 mg/kg BB (59.00%), 32 mg/kg BB (43.75%), 16 mg/kg BB (18.57%), and 8 mg/kg BB (12.01%). So, the conclusion is pulasari cortex infusion has ability to block immunology inflammation caused by active cutaneous anaphylaxis induced by ovalbumin in male Wistar rats.

**Keyword** : Pulasari cortex infusion, hypersensitivity, active cutaneous anaphylaxis reaction, ovalbumin

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	v
PRAKATA .....	vi
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA .....	ix
INTISARI .....	x
<i>ABSTRACT</i> .....	xi
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xvi
DAFTAR GAMBAR .....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xix
BAB I     PENGANTAR .....	1
A. Latar Belakang .....	1
1. Permasalahan .....	2
2. Keaslian penelitian .....	2
3. Manfaat penelitian .....	4
a. Manfaat praktis .....	4
b. Manfaat teoritis .....	4
B. Tujuan Penelitian .....	4
a. Tujuan umum .....	4

b. Tujuan khusus .....	4
<b>BAB II    PENELAAHAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
A. Obat Tradisional.....	5
B. Pulasari.....	5
1. Keterangan botani tanaman .....	5
2. Kandungan kimia .....	6
3. Khasiat, kegunaan, dan keamanan .....	8
C. Sistem Imun .....	9
1. Definisi .....	9
2. Jenis dan komponen sistem imun.....	9
a. Jenis sistem imun .....	9
b. Komponen sistem imun .....	11
3. Hipersensitivitas .....	13
a. Definisi hipersensitivitas.....	13
b. Tipe reaksi hipersensitivitas.....	13
c. Anafilaksis .....	14
1. Definisi anafilaksis.....	14
2. Alergen.....	15
3. Sel mediator .....	16
4. Etiologi anafilaksis.....	18
5. Metode anafilaksis kutaneus aktif.....	18
6. Natrium kromolin.....	20
D. Landasan Teori .....	21

E. Hipotesis.....	21
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
A. Jenis dan Rancangan Penelitian .....	22
B. Variabel dalam Penelitian .....	22
C. Definisi Operasional .....	23
D. Bahan Penelitian .....	24
E. Alat Penelitian .....	25
F. Tata Cara Penelitian .....	26
1. Determinasi tumbuhan .....	26
2. Pembuatan simplisia .....	26
3. Penyiapan hewan uji .....	28
4. Penyiapan aquadest .....	28
5. Pembuatan larutan natrium kromolin dosis 0,4 mg/200 g BB.....	29
6. Pembuatan infusa kulit batang pulasari.....	29
7. Pembuatan suspensi ovalbumin 0,1 % dalam Al(OH) <sub>3</sub> 10% .....	30
8. Pembuatan suspensi ovalbumin 5,25% dalam Al(OH) <sub>3</sub> 10% .....	30
9. Pembuatan larutan 1,5 % <i>Evans blue</i> .....	30
10. Pengelompokan hewan uji .....	30
11. Pengujian aktivitas anti-anafilaksis infusa kulit batang pulasari .....	31
a. Penetapan dosis infusa kulit batang pulasari.....	31
b. Pelaksanaan penelitian .....	32
c. Skema prosedur penelitian .....	34
G. Analisis Hasil .....	35

BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN .....	37
A.	Determinasi Tanaman Pulasari .....	37
B.	Hasil Penelitian Daya Anti-anafilaksis Infusa Kulit Batang Pulasari.....	38
1.	Orientasi dosis infusa kulit batang pulasari .....	38
2.	Hasil penelitian.....	40
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN .....	54
A.	Kesimpulan .....	54
B.	Saran .....	55
	DAFTAR PUSTAKA .....	56
	LAMPIRAN .....	60
	BIOGRAFI PENULIS .....	81



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel I. Signifikansi Data Kelompok Perlakuan dan Kontrol (Luas Area Pigmentasi).....	47
Tabel II. AUC <sub>0-8</sub> luas area pigmentasi terhadap waktu dengan atau tanpa perlakuan infusa kulit batang pulasari beserta Na-kromolin .....	52

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Alyxia reinwardtii</i> Bl.....	6
Gambar 2. Komponen Sistem Imun .....	12
Gambar 3. Mekanisme Reaksi Hipersensitivitas Tipe I .....	13
Gambar 4. Manifestasi Pelepasan dan Aktivasi Sel Mast.....	17
Gambar 5. Cara Pengukuran Diameter Area Pigmentasi.....	35
Gambar 6. Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Kontrol Negatif pada jam ke-0 .....	44
Gambar 7. Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Kontrol Negatif pada jam ke-2 .....	44
Gambar 8. Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Kontrol Negatif pada jam ke-5 .....	44
Gambar 9. Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Kontrol Negatif pada jam ke-6 .....	44
Gambar 10. Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Kontrol Negatif pada jam ke-8 .....	45
Gambar 11. Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Infusa Kulit Batang Pulasari 64 mg/kg BB pada jam ke-1 .....	45
Gambar 12. Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Infusa Kulit Batang Pulasari 64 mg/kg BB pada jam ke-3 .....	45
Gambar 13. Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Infusa Kulit Batang Pulasari 64 mg/kg BB pada jam ke-5 .....	45
Gambar 14. Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Infusa Kulit Batang Pulasari 64 mg/kg BB pada jam ke-6 .....	45
Gambar 15. Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Infusa Kulit Batang Pulasari 64 mg/kg BB pada jam ke-8 .....	46

Gambar 16. Kurva Diameter Area Pigmentasi terhadap Waktu dengan atau Tanpa Perlakuan Infusa Pulasari beserta Na-kromolin.....	47
Gambar 17. Kurva Luas Area Pigmentasi Terhadap Waktu dengan atau tanpa Perlakuan Infusa Pulasari beserta Na-kromolin .....	49
Gambar 18. Diagram batang perbandingan $AUC_{0-8}$ luas area pigmentasi ( $cm^2$ ) terhadap waktu (jam) dengan atau tanpa perlakuan infusa kulit batang pulasari beserta Na-kromolin.....	51
Gambar 19. Regresi Linier Log Dosis Infusa Kulit Batang Pulasari terhadap Daya Anti-anafilaksis.....	53

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Foto Serbuk Pulasari .....	60
Lampiran 2. Foto Infusa Kulit Batang Pulasari .....	60
Lampiran 3. Foto Produk Tradisional dengan Komposisi Pulasari .....	60
Lampiran 4. Foto Larutan Ovalbumin 5.25 % .....	60
Lampiran 5. Foto Tikus Wistar Jantan .....	61
Lampiran 6. Foto Punggung Tikus Setelah Dicukur .....	61
Lampiran 7. Foto Larutan <i>Evans Blue</i> 1.5 % .....	61
Lampiran 8. Foto Pemejanaan Ovalbumin 5.25 % pada Punggung Tikus secara subkutan .....	62
Lampiran 9. Foto Pemejanaan Larutan <i>Evans Blue</i> 1.5% melalui Vena Ekor Tikus .....	62
Lampiran 10. Data Orientasi Pengamatan Diameter Area Pigmentasi .....	62
Lampiran 11. Data Orientasi Luas Area Pigmentasi .....	64
Lampiran 12. Data Perhitungan $AUC_{0-8}$ .....	65
Lampiran 13. Data Orientasi Perhitungan Persen Daya Anti-anafilaksis .....	66
Lampiran 14. Statistik SPSS Data Orientasi dengan Metode Kolmogorov- Smirnov .....	67
Lampiran 15. Statistik SPSS Data Orientasi dengan Metode GLM .....	67
Lampiran 16. Statistik SPSS Post-Hoc Scheffe Data Orientasi Luas Area Pigmentasi .....	69
Lampiran 17. Perhitungan Konsentrasi Infusa Kulit Batang Pulasari .....	69
Lampiran 18. Data Pengamatan Diameter Area Pigmentasi .....	70
Lampiran 19. Data Luas Area Pigmentasi .....	71

Lampiran 20. Data $AUC_{0-8}$ .....	72
Lampiran 21. Data Perhitungan Persen Daya Anti-anafilaksis .....	73
Lampiran 22. Statistik SPSS Data Diameter Area Pigmentasi .....	73
Lampiran 23. Statistik SPSS Data Luas Area Pigmentasi .....	76
Lampiran 24. Perhitungan $ED_{50}$ infusa kulit batang pulasari .....	78
Lampiran 25. Surat Determinasi Pulasari .....	79
Lampiran 26. Surat Pembelian Hewan Uji .....	80

# **BAB I**

## **PENGANTAR**

### **A. Latar Belakang**

Pulasari (*Alyxia reinwardtii* Bl.) merupakan tanaman merambat dengan kulit batang putih kehijauan yang memiliki wangi tertentu dan pahit rasanya. Tanaman ini tumbuh liar di hutan dan ladang di daerah pegunungan di wilayah tropis (Anonim, 2004).

Kulitnya digunakan sebagai obat sederhana dengan nama *Alyxiae Cortex*, yang banyak dimanfaatkan masyarakat Indonesia untuk pengobatan tradisional (Anonim, 1983), salah satunya sebagai jamu anti-asma (Mursito, 2000).

Asma merupakan salah satu reaksi hipersensitivitas tipe I (tipe cepat) yang disebabkan oleh adanya alergen yang menyebabkan reaksi alergi. Anafilaksis merupakan bentuk reaksi alergi sistemik yang paling berbahaya (Dale *et al.*, 1994).

Ovalbumin merupakan alergen utama dalam putih telur yang sesuai untuk mempelajari terjadinya reaksi alergi dan menguji potensi obat-obatan yang digunakan sebagai anti-alergi (Ahmad, Salahuddin, 1972).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek dari infusa kulit batang pulasari terhadap reaksi anafilaksis kutaneus aktif yang diinduksi ovalbumin pada tikus Wistar jantan.

## 1. Permasalahan

Masalah yang diteliti dalam penelitian ini adalah :

- a. Apakah infusa kulit batang pulasari dapat menghambat inflamasi imunologis akibat reaksi anafilaksis kutaneus aktif yang diinduksi ovalbumin pada tikus Wistar jantan?
- b. Berapakah persentase daya anti-anafilaksis dan ED<sub>50</sub> infusa kulit batang pulasari pada penelitian ini?

## 2. Keaslian penelitian

Penelitian pulasari yang telah dilakukan antara lain berjudul “Analisa Kualitatif Kulit Pulasari dalam ramuan obat tradisional dengan metode Kromatografi Lapis Tipis” oleh Agustina (1984). Hasilnya menunjukkan kulit pulasari mempunyai berkas yang khas pada pengembangan KLT yang dapat digunakan untuk identifikasi ada tidaknya kulit pulasari dalam suatu ramuan obat tradisional. Bercak khas tersebut diperkirakan adalah senyawa kumarin.

Triyanto (1992) melakukan penelitian serupa berjudul “Identifikasi Struktur Senyawa Terisolasi dari Fraksi DCM Kulit Pulasari dengan Spektrometri”, yang hasilnya setelah dilakukan skrining fitokimia pada kulit pulasari menunjukkan adanya kandungan alkaloid, triterpen, dan senyawa polifenol.

Penelitian lainnya berjudul “Efek Ekstrak Korteks Pulasari terhadap Trakea Marmot *in vitro*”, yang dilakukan oleh Aji (1994), menyimpulkan bahwa

pada dosis 150 dan 300 mg dalam fraksi diklorometana (DKM) dapat menimbulkan kontraksi pada trakea marmot.

Rendeng (2000), dengan penelitiannya yang berjudul “Daya Analgetik Infus dan Ekstrak Aseton Daun Pulasari pada Mencit Putih Betina”, menghasilkan daya analgetik infusa daun pulasari pada dosis 1820; 182; dan 18,2; berturut-turut  $(72,4 \pm 1,0)\%$ ;  $(31,5 \pm 1,3)\%$ ; dan  $(71,7 \pm 1,3)\%$ .

“Daya Analgetik Infusa dan Ekstrak Etanol Kulit Batang Pulasari pada Mencit Putih Betina”, yang dilakukan oleh Ariyanti (2000), menghasilkan daya analgetik infusa kulit batang pulasari pada dosis 1820; 182; dan 18,2; berturut-turut  $(74,9 \pm 0,80)\%$ ;  $(44,4 \pm 1,59)\%$ ; dan  $(39,6 \pm 2,01)\%$ .

Sejauh ini penelitian mengenai efek infusa kulit batang pulasari (*Alyxia reinwardtii* Bl.) terhadap reaksi anafilaksis kutaneus yang diinduksi ovalbumin pada tikus Wistar jantan belum pernah dilakukan di kalangan Universitas Sanata Dharma Yogyakarta, maupun di luar kalangan Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.



### **3. Manfaat penelitian**

#### **a. Manfaat teoritis**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai ada tidaknya efek infusa kulit batang pulasari terhadap reaksi anafilaksis kutaneus aktif yang diinduksi ovalbumin pada tikus Wistar jantan.

#### **b. Manfaat praktis**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai dosis terapi infusa kulit batang pulasari yang sesuai dalam pengobatan tradisional terhadap kasus anafilaksis.

## **B. Tujuan Penelitian**

### **1. Tujuan umum**

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek penghambatan dan aktivitas anti-anafilaksis infusa kulit batang pulasari pada reaksi anafilaksis kutaneus aktif yang diinduksi ovalbumin pada tikus Wistar jantan.

### **2. Tujuan khusus**

Secara khusus penelitian ini bertujuan untuk menghitung persentase daya anti-anafilaksis dan  $ED_{50}$  infusa kulit batang pulasari pada penelitian ini.

## **BAB II**

### **PENELAAHAN PUSTAKA**

#### **A. Obat Tradisional**

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (Anonim, 1992).

Pengobatan tradisional merupakan salah satu upaya pengobatan dengan memanfaatkan bahan-bahan alam, baik yang berasal dari tumbuhan, hewan, mineral, maupun sediaan galenik yang hingga saat ini masih dilakukan sebagian masyarakat Indonesia (Anonim, 1992).

Kemajuan ilmu teknologi yang semakin pesat di zaman sekarang ini tidak mampu menggeser atau mengesampingkan begitu saja peranan obat tradisional, namun justru hidup berdampingan dan saling melengkapi (Thomas, 1992).

#### **B. Pulasari**

##### **1. Keterangan botani tanaman**

*Alyxia reinwardtii* Bl. termasuk dalam familia Apocynaceae, dengan nama daerahnya Palasari; Pulosari; dan Pulawaras serta nama simplisia *Alyxiae Cortex* (Anonim, 2004).

Tanaman pulasari berupa semak, merambat, batang berkayu bulat, bercabang, warna hijau yang memiliki wangi tertentu dan rasanya pahit. Daun tunggal, lonjong, warna putih kehijauan. Perbungaan di ketiak daun, mahkota berbentuk corong, warna putih, buah kecil, bulat telur dan berwarna hijau (Anonim, 1986), yang diketemukan tersebar di seluruh Asia yang beriklim tropis di hutan-hutan dan lereng-lereng gunung, juga di Australia dan kepulauan-kepulauan di Pasifik (Anonim, 2004).



**Gambar 1.** *Alyxia reinwardtii* Bl. (Anonim, 2004).

## 2. Kandungan kimia

Pulasari merupakan spesies tanaman obat yang mengandung pinoresinol, minyak atsiri, kumarin, asam organik, triterpen, zat samak, alkaloid dan polifenol, serta zat pahit (androgravin, andrografolid) dan panikulin (Heyne, 1987).

Kulit batang pulasari mengandung alkaloid, saponin, minyak atsiri, triterpen, asam organik dan polifenol (Mursito, 2000), zat samak, zat pahit (Mardisiwojo dan Rajakmangunsudarso, 1985), kumarin dengan wangi tertentu, dan tanin. (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

Kandungan minyak atsiri (seperti limonina), serta flavonoida berkhasiat menyembuhkan radang (Anonim a, 2009). Alkaloid tertentu mempunyai kemampuan mengurangi rasa nyeri dan bersifat sebagai penenang (Anonim b, 2009).

Alkaloid bebas hanya larut dalam pelarut organik, pseudo dan protoalkaloida larut dalam air, betanina (merah) bentuk garamnya dan alkaloida kuarternar larut dalam air (Anonim b, 2008).

Sifat antiinflamasi semakin lengkap dengan adanya kandungan minyak atsiri dan alkaloid. Fungsi alkaloid diduga membantu mengurangi kejang akibat radang dan menghilangkan rasa sakit (analgetik) (Anonim c, 2009).

Tanin memiliki efek astringen (mengecilkan pembuluh darah yang melebar akibat varises) (Anonim, 2005).

Saponin berguna untuk menghambat edema (pembengkakan akibat akumulasi cairan tubuh), juga memiliki khasiat antiinflamasi dan menguatkan dinding pembuluh darah vena. Saponin dapat mempengaruhi fase terjadinya inflamasi (peradangan) dengan menggunakan efek penutupan pada pembuluh darah kapiler yang bocor dengan mengurangi diameter pembuluh darah kapiler. Saponin menghambat kerja enzim lisosom yang merusak dinding pembuluh kapiler, sehingga menghambat terjadinya kebocoran (penyebab varises) (Anonim, 2005).

Saponin mempunyai kelarutan dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Anonim d, 2009).

### 3. **Khasiat, kegunaan, dan keamanan**

Tanaman pulasari banyak digunakan untuk mengobati sariawan, merangsang nafsu makan, mengobati batuk, mulas, kencing nanah (sebagai air masakan), demam pada anak-anak (kayunya sebagai obat luar), kejang usus (kulitnya), darah yang tidak berhenti keluar (kulit dan batangnya), radang lambung, haid tidak teratur dan keputihan (Sudarman, Harsono, 1985).

Pulasari sering digunakan untuk mengobati beberapa keluhan penyakit baik bahan tunggal maupun campuran dalam bentuk ramuan jamu. Secara empirik, pulasari digunakan antara lain untuk obat disentri dan diare (Sundari, 2001).

Pulasari dijumpai juga pada komposisi obat batuk tradisional dan jamu asma, obat sakit kuning, radang hati dan radang rahim (Sulistyo, 2000). Kulit batang pulasari digunakan untuk penurun demam, obat batuk, obat pusing dan disentri (Anonim, 1983).

Korteks pulasari sudah lama digunakan oleh nenek moyang kita, sebagai komponen jamu anti-asma. Namun demikian data ilmiah yang menyebutkan khasiat korteks pulasari sebagai obat asma masih sangat kurang (Mursito, 2000).

Beberapa produk tradisional yang memanfaatkan pulasari sebagai salah satu komposisinya, antara lain Jamu Lega Napas Cap Jago yang khasiatnya untuk meredakan batuk berdahak dan mengobati asma; Kapsul Herbal Alergi dengan khasiat mengatasi penyakit alergi; Kapsul Gurah yang berkhasiat membantu mengeluarkan dahak dan lendir, membantu mengobati asma, sinusitis, bronkitis, batuk, pilek dan TBC; serta Kapsul Radix untuk mengatasi penyakit asma.

Berdasarkan penelusuran literatur dari inventarisasi hasil penelitian tanaman obat di berbagai perguruan tinggi di Indonesia yang dilakukan sejak 1985, tercatat berbagai penelitian, termasuk penentuan toksisitas tanaman obat, salah satunya yaitu tanaman pulasari yang dihitung toksisitas akutnya ( $LD_{50}$ ) pada bagian kulit kayu dalam bentuk infusa menunjukkan nilai per oral pada tikus sebesar 79,459 mg/kg BB (Dzulkarnain, Astuti, Nurendah, 1996).

### **C. Sistem Imun**

#### **1. Definisi**

Semua mekanisme yang digunakan badan untuk mempertahankan keutuhan tubuh serta sebagai perlindungan terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup disebut Sistem Imun (Anonim a, 2008).

Sistem imun adalah serangkaian molekul, sel dan organ yang bekerja sama dalam mempertahankan tubuh dari serangan luar yang dapat mengakibatkan penyakit, seperti bakteri, jamur dan virus. Sistem imun menyediakan kekebalan terhadap suatu penyakit yang disebut imunitas (Dale *et al.*, 1994).

#### **2. Jenis dan komponen sistem imun**

##### **a. Jenis sistem imun**

*Innate immunity*, atau sering disebut imunitas alamiah, merupakan mekanisme pertama yang akan terjadi saat infeksi berlangsung, terjadi secara cepat terhadap infeksi mikrobial, dan terjadi antara jam ke-0 sampai jam ke-12 infeksi. Mekanisme tersebut melibatkan (1) penghalang fisik dan kimiawi, seperti

epitel dan senyawa antimikrobia yang dihasilkan oleh sel epitel; (2) sel fagosit (neutrofil dan makrofag) dan sel *natural killer*; (3) protein darah, termasuk sistem komplemen dan mediator inflamasi lainnya; dan (4) protein sitokin yang mengatur sel-sel pada mekanisme ini. *Innate immunity* terjadi karena tubuh dapat mengenali struktur mikroba yang masuk, yang terjadi karena sebelumnya mikroba tersebut sudah pernah menginfeksi tubuh, atau karena struktur mikroba tersebut mirip seperti struktur mikroba lain yang pernah menginfeksi tubuh. Kelemahan dari mekanisme ini adalah tidak dapat mengenali struktur yang sama sekali baru menginfeksi tubuh. Untuk infeksi tersebut, *adaptive immunity* yang berperan (Abbas *et al.*, 2000).

*Adaptive immunity*, atau imunitas spesifik, terjadi ketika *innate immunity* gagal menghalau infeksi karena benda asing yang masuk memiliki struktur yang sama sekali baru bagi tubuh. Mekanisme ini terjadi sekitar 1 hingga 5 hari setelah infeksi. Secara singkat, mekanisme ini akan mencoba membuat "ingatan" baru tentang struktur benda asing yang masuk ke dalam tubuh, kemudian bereaksi untuk menghalau benda asing tersebut. Sel yang terlibat pada mekanisme ini adalah limfosit, baik sel T limfosit maupun sel B limfosit (Abbas *et al.*, 2000).

*Adaptive immunity* terbagi menjadi 2, yaitu:

1) Imunitas humoral, yaitu imunitas yang dimediasi oleh molekul di dalam darah, yang disebut antibodi. Antibodi dihasilkan oleh sel limfosit B. Mekanisme imunitas ini ditujukan untuk benda asing yang berada di luar sel (cairan atau jaringan tubuh). Limfosit B akan mengenali benda asing (antigen), kemudian akan memproduksi antibodi yang akan menempel pada permukaan antigen lalu

menggumpalkan antigen tersebut sehingga menjadi tidak aktif (*Abbas et al.*, 2000).

2) Imunitas selular, yaitu imunitas yang dimediasi oleh sel T limfosit. Mekanisme ini ditujukan untuk benda asing yang dapat menginfeksi sel (beberapa bakteri dan virus) sehingga tidak dapat dilekati oleh antibodi. T limfosit kemudian akan menginduksi 2 hal, yaitu (1) fagositosis benda asing tersebut oleh sel yang terinfeksi, dan (2) lisis sel yang terinfeksi sehingga benda asing tersebut terbebas ke luar sel dan dapat dilekati oleh antibodi (*Abbas et al.*, 2000).

#### **b. Komponen sistem imun**

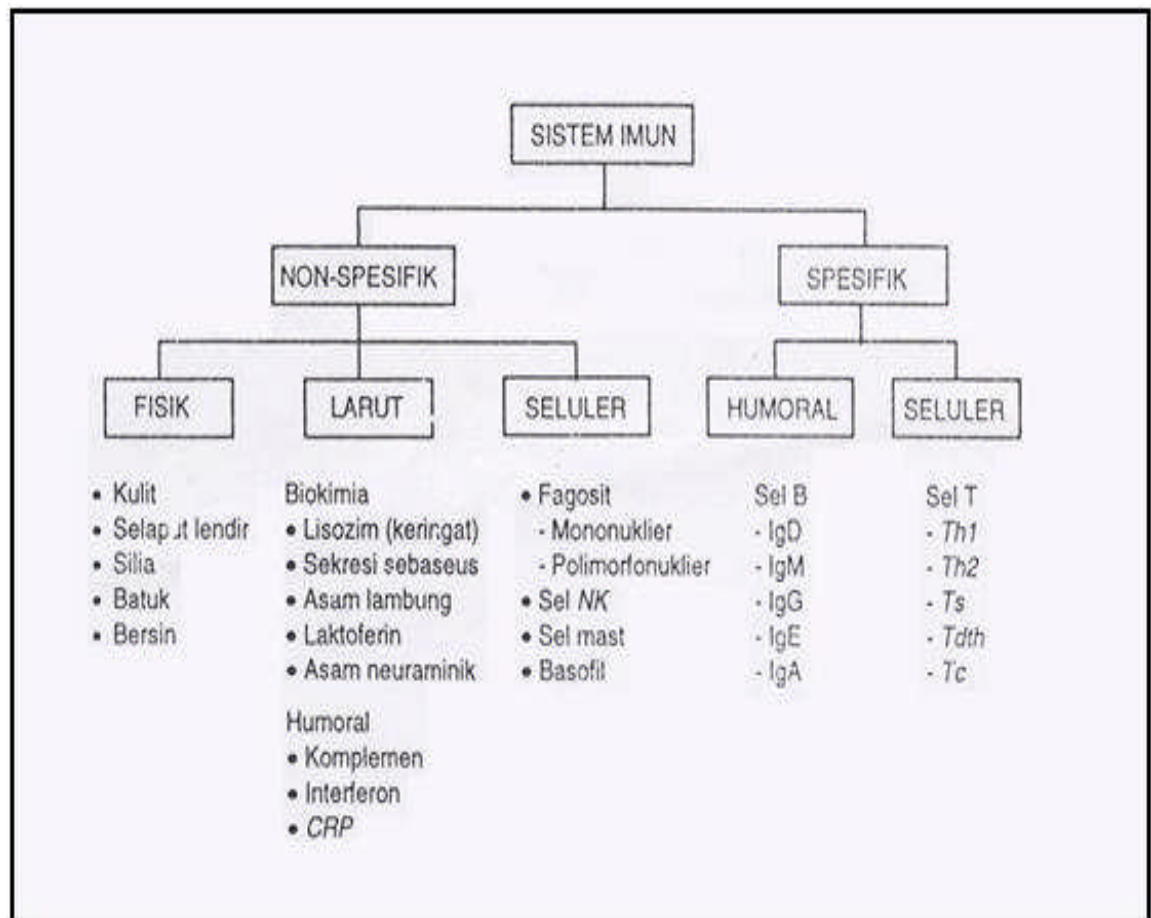
Sel epitel yang utuh merupakan barrier fisik terhadap mikroba dari lingkungan dan menghasilkan peptida yang berfungsi sebagai antibodi natural. (*Ghaffar*, 2007).

Ketika terdapat mikroba dalam tubuh, komponen pertama yang bekerja adalah neutrofil dan makrofag dengan cara ingesti dan penghancuran terhadap mikroba tersebut. Hal ini dikarenakan makrofag dan neutrofil mempunyai reseptor di permukaannya yang bisa mengenali bahan intraselular (DNA), endotoksin dan lipopolisakarida pada mikroba, yang selanjutnya mengaktifkan aktivitas antimikroba dan sekresi sitokin (*Subowo*, 1993).

NK sel mampu mengenali virus dan komponen internal mikroba. NK sel diaktivasi oleh antibodi yang melingkupi sel yang terinfeksi virus dan bahan intrasel mikroba. Selanjutnya, NK sel akan menghasilkan perforin untuk merangsang terjadinya apoptosis (*Subowo*, 1993).



Komponen utama dalam sistem imun adalah leukosit. Berdasarkan adanya bintik-bintik atau granular, leukosit terbagi atas granular, yaitu basofil, eosinofil dan neutrofil, serta agranular, yaitu monosit dan limfosit (Subowo, 1993).



**Gambar 2.** Komponen Sistem Imun (Subowo, 1993).

### 3. Hipersensitivitas

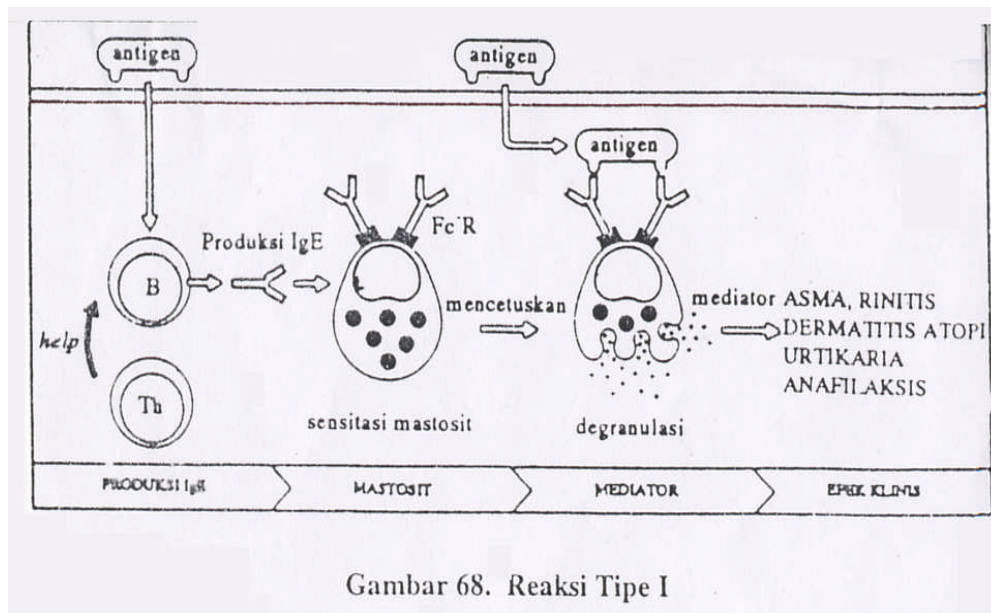
#### a. Definisi hipersensitivitas

Hipersensitivitas adalah respon imun yang merusak jaringan tubuh sendiri yang terbagi menjadi empat kelas (tipe I – IV) berdasarkan mekanisme yang ikut serta dan lama waktu reaksi hipersensitif (Ghaffar, 2007).

#### b. Tipe reaksi hipersensitivitas

Tipe I adalah kegagalan sistem imun dimana tubuh menjadi hipersensitif dalam bereaksi secara imunologi terhadap lingkungan atau bahan-bahan yang oleh tubuh dianggap asing dan berbahaya. Bahan-bahan yang menyebabkan hipersensitivitas disebut alergen (Terr, 1994).

Disebut reaksi hipersensitivitas tipe cepat yang melibatkan Ig E. Contohnya pada asma, rinitis, urtikaria, dan anafilaksis. (Terr, 1994).



**Gambar 3.** Mekanisme Reaksi Hipersensitivitas Tipe I (Subowo, 1993).

Tipe II merupakan reaksi sitotoksik, contohnya pada reaksi transfusi. Tipe III merupakan reaksi kompleks imun. Contohnya pada SLE (Autoimun), demam reumatik, artritis rheumatoid. Tipe IV merupakan reaksi hipersensitivitas lambat dalam waktu lebih dari 24 jam. Contohnya pada hipersensitivitas kontak, reaksi tuberkulin, dan reaksi granuloma (Terr, 1994).

### **c. Anafilaksis**

#### **1. Definisi anafilaksis**

Reaksi anafilaksis merupakan suatu reaksi hipersensitivitas tipe cepat (reaksi hipersensitivitas tipe I), yaitu reaksi antara antigen spesifik dan antibodi spesifik (IgE) yang terikat pada sel mast. Sel mast dan basofil akan mengeluarkan mediator yang mempunyai efek farmakologik terhadap berbagai macam organ (Terr, 1997).

Anafilaksis adalah suatu reaksi alergi yang bersifat akut, menyeluruh dan bisa menjadi berat. Anafilaksis terjadi pada seseorang yang sebelumnya telah mengalami sensitisasi akibat pemaparan terhadap suatu alergen (Inagaki, 1992).

Anafilaksis merupakan bentuk reaksi alergi sistemik yang paling berbahaya. Reaksi alergi yang kompleks dapat digambarkan sebagai berikut: reaksi diawali dengan pajanan terhadap alergen yang ditangkap oleh *Antigen Presenting Cell* (APC), dipecah menjadi peptida-peptida kecil, diikat molekul HLA (MHC II), bergerak ke permukaan sel dan dipresentasikan ke sel Th-2. Sel Th-2 diaktifkan dan memproduksi sitokin-sitokin antara lain IL-4 dan IL-13 yang memacu *switching* produksi IgG ke IgE oleh sel B, terjadi sensitisasi

sel mast dan basofil, sedangkan IL-5 mengaktifkan eosinofil yang merupakan sel inflamasi utama dalam reaksi alergi. Alergi dapat merupakan gangguan hipersensitivitas lokal atau sistemik. Kulit dan saluran napas adalah organ yang paling sering terpajan alergen dan terlibat dalam penyakit alergi (Inagaki,1992).

## **2. Alergen**

Alergen adalah zat yang mampu menimbulkan respon imun spesifik berupa pembentukan antibodi atau kekebalan selular, atau keduanya. Antigen adalah zat yang mampu bereaksi dengan antibodi atau sel T yang sudah sensitif. Imunogen selalu bersifat antigenik tetapi antigen tidak perlu imunogenik, misalnya haptan, kecuali jika bergabung dengan protein. Alergen adalah antigen khusus yang menginduksi reaksi hipersensitivitas tipe cepat dan dapat dibagi dalam 2 kelompok, yaitu alergen protein lengkap dan alergen dengan berat molekul rendah (haptan) (Baratawidjaja, 2000).

### ***Alergen protein lengkap***

Alergen yang terdiri dari protein lengkap yang mampu merangsang pembentukan IgE tanpa bantuan zat lain karena mempunyai determinan antigen yang dikenal sel B dan gugus karier yang merangsang makrofag dan sel T untuk mengembangkan aktivasi sel B. Yang termasuk kelompok ini misalnya serbuk sari, bulu binatang, ovalbumin, ATS (serum antitetanus) dan ADS (serum antidifteri) (Benjamini *et al.*, 2000).

Ovalbumin adalah protein utama dalam putih telur (60-65% dari total protein), yang tersusun dari 385 asam amino (lisin, asam aspartat, asam glutamat), dan 23 glikoprotein, memiliki massa molekul 45 kDa, titik didih 84°C dan stabil pada suhu 2-8°C. Ovalbumin adalah suatu monomer, globular fosfoglikoprotein, yang setengahnya bersifat hidrofobik (Li-Chan, Nakai, 1989).

Ovalbumin terdiri dari 3,5% karbohidrat, 4 group sulfhidrilat bebas, dan 1 group disulfida (Fothergill, Fothergill, 1968).

Ovalbumin adalah molekul alergen yang sesuai untuk mempelajari terjadinya reaksi alergi dan menguji potensi obat-obatan yang digunakan sebagai anti-alergi (Ahmad, Salahuddin, 1972).

### ***Alergen dengan berat molekul rendah***

Kelompok ini tidak dapat menimbulkan respon antibodi berupa IgE karena hanya berfungsi sebagai haptan. Biasanya haptan harus berikatan dengan protein jaringan atau protein serum *in vivo* membentuk kompleks haptan-karier untuk dapat menimbulkan respon antibodi IgE. Yang termasuk kelompok ini yaitu obat-obatan (Benjamini *et al.*, 2000).

### **3. Sel mediator**

Yang termasuk sel mediator adalah sel mast dan basofil. Sel mast diselimuti oleh IgE yang terikat pada reseptor spesifik untuk bagian Fc rantai epsilon. Setiap sel mast dapat mengikat bermacam IgE spesifik sehingga sel mast dapat bereaksi dengan berbagai macam antigen (Garrison, 1991).

Sel mast dan basofil mengandung mediator kimia yang poten untuk reaksi hipersensitivitas tipe cepat. Mediator tersebut adalah histamin, SRS-A, ECF-A, PAF, dan heparin. Beberapa mediator disimpan dalam lisosom (heparin, histamin) yang berada dalam sitoplasma sel mast, dan dilepaskan bila terdapat rangsangan yang cukup.

Rangsangan alergi dimulai dengan *cross-linking* dua atau lebih IgE yang terikat pada sel mast atau basofil dengan alergen. Rangsang ini meneruskan sinyal untuk mengaktifkan sistem nukleotida siklik yang meninggikan rasio cGMP terhadap cAMP dan masuknya ion  $Ca^{++}$  ke dalam sel. Peristiwa ini akan menyebabkan pelepasan mediator lain (Garrison, 1991).



**Gambar 4.** Manifestasi Pelepasan dan Aktivasi Sel Mast (Garrison, 1991).

#### **4. Etiologi anafilaksis**

Penyebab anafilaksis sangat beragam, diantaranya adalah antibiotik, ekstrak alergen, serum kuda, zat diagnostik, bisa, produk darah, anestetikum lokal, makanan, enzim, hormon, dan lain-lain (*Abbas et al.*, 2000).

Beberapa bahan yang sering dipergunakan untuk prosedur diagnosis dan dapat menimbulkan anafilaksis misalnya adalah zat radioopak, bromsulfalein, benzilpenisiloil-polilisin. Demikian pula dengan anestetikum lokal seperti prokain atau lidokain. Darah lengkap atau produk darah seperti gamaglobulin dan kriopresipitat dapat pula menyebabkan anafilaksis. Makanan yang telah dikenal sebagai penyebab anafilaksis antara lain susu sapi, kerang, kacang-kacangan, ikan, telur dan udang (*Abbas et al.*, 2000).

#### **5. Metode anafilaksis kutaneus aktif**

Anafilaksis kutaneus aktif, dilakukan dengan menyuntikkan suatu antigen ke dalam kulit hewan uji yang telah disensitisasi dan kemudian akan menimbulkan reaksi anafilaksis lokal.

Respon yang terjadi oleh adanya tantangan antigen berupa ovalbumin yang diberikan secara subkutan pada reaksi anafilaksis kutaneus aktif disebut *wheal and flare*, yang dikarakterisasi dengan eritema dan edema (*Benjamini et al.*, 2000). Respon tersebut terjadi secara lokal dan dapat diukur sebagai area inflamasi. Kenaikan permeabilitas vaskuler lokal yang merupakan ciri khas dari reaksi ini, dapat ditunjukkan dengan menggunakan pewarna *Evans blue* yang disuntikkan secara intravena (*Henson*, 1993). Metode anafilaksis

kutaneus aktif ini merupakan salah satu model yang baik untuk penapisan dan pengembangan obat anti-alergi.

Reaksi anafilaksis kutaneus aktif melibatkan produksi imunoglobulin E oleh limfosit B akibat sensitisasi ovalbumin. Proses ini kemudian akan menstimulasi terbentuknya limfosit penguat yang bersirkulasi ke seluruh tubuh, yang menyebabkan sel tersebut mempunyai ingatan terhadap antigen (ovalbumin) sehingga sensitisasi ovalbumin yang kedua menyebabkan pembentukan IgE yang lebih cepat.

Imunoglobulin E yang diproduksi kemudian menempel pada permukaan membran sel mast pada reseptor FcεRI pada sel mast. Setelah proses pembangkitan reaksi inflamasi oleh ovalbumin mengakibatkan ovalbumin tersebut segera berikatan dan membentuk jembatan antara 2 molekul IgE yang menempel pada sel mast (*crosslinking*) yang kemudian akan mengaktifasi tirosin kinase dan mengaktifkan fosfolipase C. Selanjutnya, fosfolipase C lalu menghidrolisis fosfatidil inositol (PI) menjadi inositol trifosfat (IP<sub>3</sub>) dan 1,2-diasilgliserol (DAG). Inositol trifosfat akan menghasilkan peningkatan kadar ion kalsium intraseluler baik dari *intracellular Ca<sup>2+</sup> pool* maupun *influx Ca<sup>2+</sup>*, sehingga mengakibatkan degranulasi sel mast. Sedangkan 1,2-diasilgliserol mengaktifkan protein kinase C (PKC), kemudian secara sinergis juga merangsang degranulasi sel mast.

Degranulasi terjadi melalui proses eksositosis, yang akhirnya melepaskan beberapa mediator (Kresno, 2001; Subowo, 1993). Sel mast pada



tikus terdapat pada 2 jaringan utama yaitu jaringan ikat dan mukosa. Sel mast jaringan ikat melepaskan histamin, serotonin dan metabolit asam arakhidonat berupa prostaglandin, sedangkan sel mast mukosa melepaskan amina vasoaktif yaitu histamin, serotonin serta produk lipoksigenase seperti leukotrien (Dale *et al.*, 1994; Ikawati dkk., 2006).

## **6. Natrium kromolin**

Salah satu jenis kortikosteroid adalah natrium kromolin. Efek terapeutik utama yang dimiliki adalah inhibisi terhadap proses degranulasi sel mast sehingga mencegah pelepasan mediator kimiawi untuk anafilaksis (Harrison,1991).

Natrium kromolin sebagai penstabil sel mast secara tidak langsung akan memblok influks kalsium ke dalam sel mast sehingga mencegah pelepasan mediator-mediator inflamasi. Natrium kromolin cenderung bekerja sangat baik pada pasien yang derajat alerginya sangat tinggi (Harrison,1991).

Na-kromolin memperbaiki fungsi paru, mengurangi gejala dan menurunkan reaktivitas jalan napas pada pasien asma. Preparat ini paling berkhasiat pada pasien atopik yang menderita serangan musiman atau yang mengalami stimulasi terus menerus pada jalan napasnya. Berbeda dengan steroid, kromolin jika diberikan sebagai preparat profilaksis akan menyekat efek obstruktif yang akut akibat pajanan terhadap antigen (Baratawidjaja, 1990).

#### **D. Landasan Teori**

Korteks pulasari digunakan oleh nenek moyang kita sebagai komponen jamu anti-asma, obat batuk tradisional, radang hati dan radang rahim.

Kulit batang pulasari mengandung alkaloid, saponin, minyak atsiri, dan tanin yang diduga berkhasiat menyembuhkan radang, memiliki efek antiinflamasi dan efek astringen.

Reaksi inflamasi imunologis disebabkan keterlibatan suatu kompleks imun (antigen-antibodi), imunoglobulin E (IgE) maupun kenaikan reaktivitas terhadap antigen spesifik oleh sel T.

Asma dan anafilaksis merupakan bentuk reaksi hipersensitivitas tipe I yang melibatkan alergen dan pembentukan Ig E yang menyebabkan reaksi alergi.

Ovalbumin merupakan alergen utama dalam putih telur yang menyebabkan reaksi alergi yang diperantarai IgE. Ovalbumin dapat menstimulasi respon imun melalui injeksi, menginduksi reaksi hipersensitivitas dan telah banyak digunakan dalam studi mekanisme hipersensitivitas pada tikus Wistar.

#### **E. Hipotesis**

Infusa kulit batang pulasari memiliki efek anti-anafilaksis terhadap reaksi anafilaksis kutaneus aktif yang diinduksi ovalbumin pada tikus Wistar jantan.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian eksperimental murni dengan menggunakan rancangan acak lengkap pola searah. Acak berarti pengelompokan perlakuan secara *random*, lengkap berarti semua variabel dalam penelitian ini sudah dipertimbangkan (bahan, sampel, dan hewan uji), selain itu penelitian ini menggunakan kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Penelitian pola searah maksudnya variabel *independent* yang digunakan dalam penelitian ini hanya 1, yaitu dosis infusa kulit batang pulasari.

#### **B. Variabel dalam Penelitian**

Variabel-variabel yang terdapat dalam penelitian efek infusa kulit batang pulasari terhadap reaksi anafilaksis kutaneus aktif yang diinduksi ovalbumin pada tikus Wistar jantan ini terdiri dari:

1. Variabel utama
  - a. Variabel *independent*

Termasuk variabel *discreet*, yaitu dosis infusa kulit batang pulasari, yaitu jumlah mg serbuk kulit batang pulasari tiap satuan kg berat badan subjek uji bersangkutan yang dibuat dalam bentuk sediaan infusa dan diberikan secara oral.

b. Variabel *dependent* atau respon yang diukur

Termasuk variabel *continuous*, yaitu diameter area pigmentasi untuk menghitung luas area pigmentasi (AUC) sehingga dapat diukur daya anti-anafilaksis sediaan infusa kulit batang pulasari.

2. Variabel pengacau terkendali, meliputi : galur, umur, jenis kelamin, berat badan hewan uji, asal tanaman pulasari (termasuk dalam range tertentu untuk meminimalisasi variabilitas).

a. Galur tikus : Wistar

b. Umur tikus : 2-3 bulan

c. Berat tikus : 150-200 g

d. Jenis kelamin tikus : jantan

e. Asal tanaman pulasari : kaki gunung Lawu, Tawangmangu, Karanganyar

3. Variabel pengacau tak terkendali, meliputi kondisi patologis hewan uji serta pengaruh lingkungan seperti suhu dan kelembaban.

### C. Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian efek infusa kulit batang pulasari terhadap reaksi anafilaksis kutaneus aktif yang diinduksi ovalbumin pada tikus Wistar jantan ini meliputi :

1. Kulit batang pulasari adalah kulit batang tanaman pulasari (*Alyxia reinwardtii* Bl.) yang tumbuh di kaki Gunung Lawu, Tawangmangu, Karanganyar.

2. Infusa kulit batang pulasari adalah infusa kulit batang tanaman pulasari (*Alyxia reinwardtii* Bl.) yang dibuat dengan mencampur simplisia dengan derajat halus yang sesuai dalam panci air, dipanaskan di atas tangas air selama 15 menit dihitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sekali-sekali diaduk dan diserkai selagi panas melalui kain flannel kemudian ditambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infusa 100 ml.

#### **D. Bahan Penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

1. Bahan uji, yaitu serbuk kulit batang pulasari yang diperoleh dari BPTO Tawangmangu, diambil dari kaki Gunung Lawu, Tawangmangu, Karanganyar.
2. Hewan uji, yaitu tikus jantan galur Wistar berumur 2 sampai 3 bulan dengan berat badan 150 sampai 200 g yang diperoleh dari Laboratorium Imono Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
3. Zat penginduksi reaksi anafilaksis kutaneus aktif (alergen), yaitu ovalbumin (Sigma Chemicals), yang diperoleh dari Fakultas Farmasi Program Studi Magister Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
4. Zat pewarna biru penanda (indikator) terjadinya udem (inflamasi) pada daerah punggung tikus, yaitu *Evans blue* (Sigma Chemicals), yang diperoleh dari Fakultas Farmasi Program Studi Magister Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

5. Pensuspensi ovalbumin, yaitu aluminium hidroksida p.a (Merck Chemicals), yang diperoleh dari Fakultas MIPA Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
6. Kontrol positif, yaitu natrium kromolin (CONVERS<sup>®</sup>), diperoleh dari Apotek Rajawali, Yogyakarta.
7. Larutan NaCl fisiologis sebagai pengencer Na-kromolin dan pelarut *Evans blue*, diperoleh dari Apotek Rajawali, Yogyakarta.
8. Aquadest, sebagai bahan pelarut pembuatan infusa kulit batang pulasari dan kontrol negatif, diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.

#### **E. Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

1. Timbangan elektrik (Mettler, PM 4600, Delta range) kepekaan 0,1 g
2. Timbangan analitik (Mettler Toledo AB 204, Switzerland) kepekaan 0,1 mg
3. S spuit injeksi volume 3 ml, ukuran jarum 23G x ¼ (0,6 x 32 mm)
4. S spuit injeksi volume 1 ml, ukuran jarum 27G x ½ (0,4 x 13 mm) (Terumo)
5. Kanul oral tikus ukuran 14G
6. Alat cukur dan pisau cukur (Gillete Goal)
7. Meteran skala 0,1 cm (Butterfly)
8. Alat-alat gelas

## F. Tata Cara Penelitian

### 1. Determinasi tanaman

Determinasi dimaksudkan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar adalah pulasari yang mempunyai nama ilmiah *Alyxia reinwardtii* Bl.

### 2. Pembuatan simplisia

Simplisia serbuk kulit batang pulasari yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Balai Pengembangan Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, yang diambil oleh petugas BPTO dari kaki Gunung Lawu yang terletak sekitar 1900 meter di atas permukaan laut.

Pembuatan simplisia serbuk kulit batang pulasari dilakukan di BPTO Tawangmangu melalui beberapa tahap, yaitu:

- a. Pengumpulan bahan baku (batang pulasari), dilakukan dengan memperhatikan sifat dan kandungan senyawa aktif, karena kulit batang pulasari mempunyai kandungan minyak atsiri, maka pengumpulan dilakukan pada pagi hari.
- b. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lain dari batang pulasari.
- c. Pencucian untuk menghilangkan pengotor yang melekat pada bahan simplisia dalam waktu yang sesingkat mungkin untuk mencegah kandungan senyawa aktif ikut terbawa saat pencucian.

- d. Pemisahan dan perajangan kulit batang pulasari dilakukan untuk memperoleh kulit batang pulasari saja (tanpa batang) dan mempermudah proses pengeringan serta pengepakan.
- e. Pengeringan dilakukan dengan oven, pada suhu 37-40 °C hingga benar-benar kering, yaitu ketika simplisia telah mudah untuk dipatahkan. Selain cara tersebut, untuk mengetahui simplisia benar-benar kering, dilakukan dengan menghitung selisih berat simplisia sebelum dan sesudah pengeringan. Simplisia telah kering bila telah kehilangan berat sekitar 60 – 70% (kadar air sekitar 7–12%). Tujuan pengeringan untuk memperoleh simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu lebih lama. Pengeringan dengan oven dipilih karena memiliki beberapa keuntungan dibandingkan pengeringan secara alami (sinar matahari), antara lain pengeringannya lebih merata, waktu yang diperlukan lebih singkat, tidak ada pengotor dari lingkungan dan tidak dipengaruhi oleh cuaca (suhu lebih stabil). Pengeringan terlalu lama dapat mengakibatkan simplisia ditumbuhi kapang atau mikroorganisme lain. Pengeringan dengan suhu terlalu tinggi dapat menyebabkan perubahan kimia senyawa aktif bahan simplisia (Anonim, 1985).



- f. Sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing dan pengotor-pengotor lain yang masih ada.
- g. Simplisia yang diperoleh selanjutnya diserbuk dengan blender dan diayak dengan ayakan no.30, dengan ukuran diameter lubang ayakan 0,595 mm atau 595  $\mu\text{m}$ , 144 lubang/ $\text{cm}^2$ , yang menghasilkan serbuk simplisia berukuran seragam.

### 3. Penyiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur Wistar berumur 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 g. Tikus yang dibutuhkan sebanyak 52 ekor, 28 ekor digunakan untuk orientasi dan 24 ekor digunakan untuk penelitian.

Tikus dipelihara dalam kondisi sama, yaitu sama-sama ditempatkan di laboratorium Imono Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta, begitu juga makanan dan minuman yang diberikan, yaitu AD II untuk makanan dengan minuman air dalam dot botol kaca *ad libitum*. Sebelum diberi perlakuan, tikus dipuaskan selama 24 jam dengan tetap dilakukan pemberian minum.

### 4. Penyiapan aquadest sebagai kontrol negatif dan sebagai pelarut pembuatan infusa kulit batang pulasari

Aquadest dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.

Pemberian volume aquadest sebagai kontrol negatif dilakukan secara per oral pada hewan uji dihitung dengan cara sebagai berikut.

$$\text{Volume aquadest yang diberikan} = \frac{\text{BB tikus}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ ml}$$

Batasan volume pemberian per oral untuk tikus = 1-5 ml.

#### 5. Pembuatan larutan natrium kromolin dosis 0,4 mg/200 g BB

Natrium kromolin dosis 0,4 mg/200 g BB sebagai kontrol positif, dibuat dalam bentuk sediaan konsentrasi 0,4 mg/ml dengan volume pemberian 1 ml/200 g BB. Konsentrasi natrium kromolin dalam sediaan paten (CONVERS<sup>®</sup>) adalah 20 mg/ml. Diambil 1 ml natrium kromolin dari sediaan paten kemudian diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis sampai 50 ml.

#### 6. Pembuatan infusa kulit batang pulasari

Pembuatan infusa dilakukan menurut cara Farmakope Indonesia edisi IV (Anonim, 1995), sejumlah simplisia serbuk kulit batang pulasari untuk dosis 4 mg/kg BB sebanyak 16 mg (C = 0,16 mg/ml), untuk dosis 8 mg/kg BB sebanyak 32 mg (C = 0,32 mg/ml), untuk dosis 16 mg/kg BB sebanyak 64 mg (C = 0,64 mg/ml), untuk dosis 32 mg/kg BB sebanyak 128 mg (C = 1,28 mg/ml), dan untuk dosis 64 mg/kg BB sebanyak 256 mg (C = 2,56 mg/ml).

Selanjutnya masing-masing serbuk dicampur dengan aquadest secukupnya dalam panci air, dipanaskan di atas tangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sekali-sekali diaduk, kemudian diserkai selagi panas melalui kain flannel, ditambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infus 100 ml.

Dari kelima peringkat dosis tersebut dilakukan orientasi dan diperoleh pada dosis 4 mg/kg BB memberikan efek yang tidak berbeda secara signifikan dengan kontrol negatif ( $p = 0.755$ ), sehingga untuk penelitian selanjutnya tidak diikutkan ke dalam peringkat dosis uji. Untuk penelitian, digunakan 4 peringkat dosis infusa kulit batang pulasari, yaitu dosis 8 mg/kg BB, 16 mg/kg BB, 32 mg/kg BB, dan 64 mg/kg BB dengan cara pembuatan yang sama seperti di atas.

7. Pembuatan Suspensi Ovalbumin 0,1 % dalam  $\text{Al}(\text{OH})_3$  10%

Ovalbumin 50,0 mg dilarutkan dalam 500 ml suspensi  $\text{Al}(\text{OH})_3$  10 %.

Volume pemberian 1 ml/200 g BB untuk sensitisasi.

8. Pembuatan Suspensi Ovalbumin 5,25% dalam  $\text{Al}(\text{OH})_3$  10%

Ovalbumin 262,5 mg dilarutkan dalam 50 ml suspensi  $\text{Al}(\text{OH})_3$  10 %.

Volume pemberian 1 ml/200 g BB untuk pembangkitan reaksi inflamasi.

9. Pembuatan larutan *Evans blue* 1,5 %

*Evans blue* 375,0 mg dilarutkan dalam 25 ml larutan NaCl fisiologis.

Volume pemberian 0,35 ml / 200 g BB (indikator area yang terinflamasi).

10. Pengelompokan hewan uji

Lima puluh dua ekor tikus Wistar jantan dibagi secara acak menjadi 7 kelompok untuk orientasi sebelum penelitian dan 6 kelompok untuk penelitian dengan masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Tujuh kelompok orientasi terdiri dari 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif,

dan 5 kelompok perlakuan infusa kulit batang pulasari berturut-turut dosis 4 mg/kg BB, 8 mg/kg BB, 16 mg/kg BB, 32 mg/kg BB, dan 64 mg/kg BB.

Enam kelompok penelitian terdiri dari 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif, dan 4 kelompok perlakuan infusa kulit batang pulasari berturut-turut dosis 8 mg/kg BB, 16 mg/kg BB, 32 mg/kg BB, dan 64 mg/kg BB.

11. Pengujian aktivitas anti-anafilaksis infusa kulit batang pulasari dengan metode anafilaksis kutaneus aktif

a. Penetapan dosis infusa kulit batang pulasari

Berdasarkan penelusuran literatur dari inventarisasi hasil penelitian tanaman obat di berbagai perguruan tinggi di Indonesia yang dilakukan sejak 1985 tercatat berbagai penelitian termasuk penentuan toksisitas tanaman obat, salah satunya yaitu tanaman Pulasari yang dihitung toksisitas akutnya ( $LD_{50}$ ) pada bagian kulit kayu dalam bentuk infusa menunjukkan nilai  $LD_{50}$  pada tikus secara per oral sebesar 79.459 mg/kg BB (Dzulkarnain, Astuti, Nurendah, 1996).

Berdasarkan pustaka di atas, dosis infusa kulit batang pulasari yang digunakan untuk orientasi ditetapkan berdasarkan persentasenya terhadap  $LD_{50}$  tikus berturut-turut sebesar 5% dari  $LD_{50}$  yaitu 3,9730 mg/kg BB  $\approx$  4 mg/kg BB, 10% dari  $LD_{50}$  yaitu 7,9459 mg/kg BB  $\approx$  8 mg/kg BB, 20% dari  $LD_{50}$  yaitu 15,8918 mg/kg BB  $\approx$  16 mg/kg BB, 40% dari  $LD_{50}$  yaitu 31,7836 mg/kg BB  $\approx$  32 mg/kg BB, dan 80% dari  $LD_{50}$  yaitu 63,5672 mg/kg BB  $\approx$  64 mg/kg BB.

Orientasi dilakukan pada 7 kelompok hewan uji yang terdiri dari 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif, dan 5 kelompok perlakuan infusa kulit batang pulasari berturut-turut dosis 4 mg/kg BB, 8 mg/kg BB, 16 mg/kg BB, 32 mg/kg BB, dan 64 mg/kg BB.

Prosedur penelitian yang dilakukan untuk masing-masing kelompok uji sama dengan langkah kerja pada penelitian pengujian aktivitas anti-anafilaksis infusa kulit batang pulasari yang dijabarkan pada penjelasan berikutnya.

b. Pelaksanaan penelitian

Berdasarkan hasil orientasi penetapan dosis infusa kulit batang pulasari yang telah dilakukan sebelumnya, maka ditetapkan dosis terendah infusa kulit batang pulasari yang berefek anti-anafilaksis adalah dosis 8 mg/kg BB. Dosis 4 mg/kg BB tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif (aquadest), sehingga tidak diikuti dalam penelitian selanjutnya. Sedangkan dosis tertinggi infusa kulit batang pulasari ditetapkan sebesar 64 mg/kg BB berdasarkan orientasi yang telah dilakukan.

### Penentuan peringkat dosis

$$\begin{aligned}
 a &= \sqrt[n-1]{\frac{\text{dosis tertinggi}}{\text{dosis terendah}}} \\
 &= \sqrt[4-1]{\frac{64 \text{ mg/kg BB}}{8 \text{ mg/kg BB}}} \\
 &= \sqrt[3]{8} \\
 &= 2
 \end{aligned}$$

$$\text{Dosis terendah (1)} = 8 \text{ mg/kg BB}$$

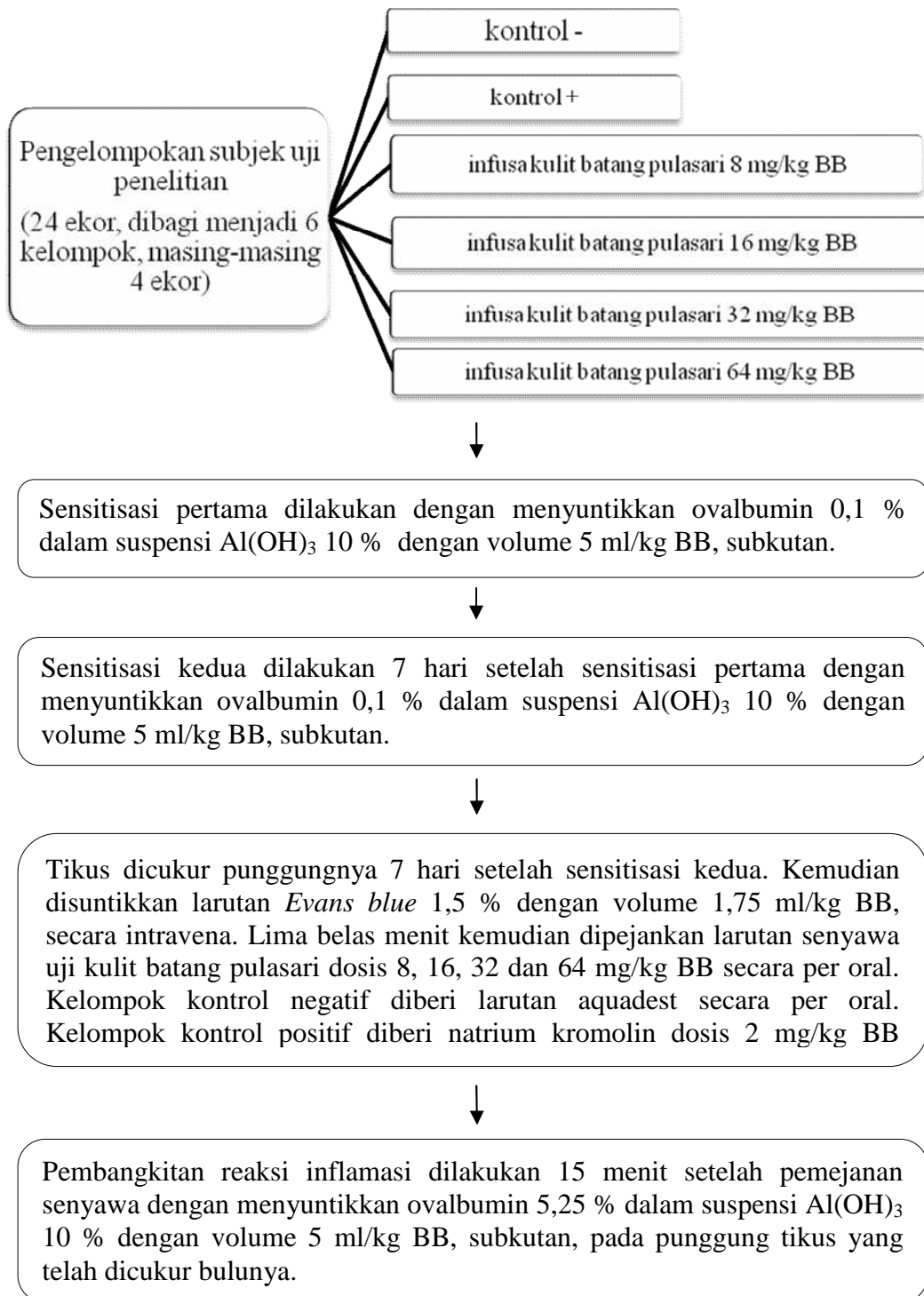
$$\begin{aligned}
 \text{Dosis 2} &= a \times \text{dosis 1} \\
 &= 2 \times 8 \text{ mg/kg BB} \\
 &= 16 \text{ mg/kg BB}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Dosis 3} &= a \times \text{dosis 2} \\
 &= 2 \times 16 \text{ mg/kg BB} \\
 &= 32 \text{ mg/kg BB}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Dosis 4 (dosis tertinggi)} &= a \times \text{dosis 3} \\
 &= 2 \times 32 \text{ mg/kg BB} \\
 &= 64 \text{ mg/kg BB}
 \end{aligned}$$

Jadi, pengelompokan hewan uji menjadi 6 kelompok yang terdiri dari 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif, dan 4 kelompok perlakuan infusa kulit batang pulasari berturut-turut dosis 8 mg/kg BB, 16 mg/kg BB, 32 mg/kg BB, dan 64 mg/kg BB.

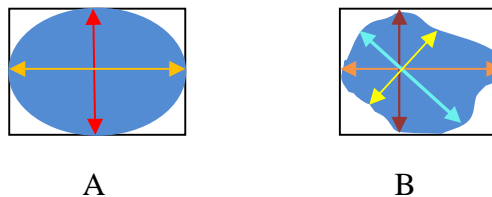
## c. Skema prosedur penelitian



### G. Analisis Hasil

Data yang diperoleh berupa diameter area pigmentasi. Pengamatan dilakukan setelah pembangkitan reaksi inflamasi mulai jam ke-0 hingga jam ke-8 setelah pemejanaan ovalbumin dengan mengukur diameter area pigmentasi yang ditandai dengan warna biru pada punggung tikus dengan meteran skala 0,1 cm.

Berikut cara pengukuran diameter area pigmentasi yang ditandai dengan warna biru pada punggung tikus. Diameter diukur dari 4 atau lebih titik berbeda selanjutnya dihitung diameter rata-ratanya.



**Gambar 5.** Cara Pengukuran Diameter Area Pigmentasi

Pada contoh A, diameter diukur dari rata-rata jumlah panjang garis merah dan kuning. Contoh : garis merah 3 cm, garis kuning 5 cm, maka diameternya:  $\frac{(3+5)}{2} = 4$  cm.

Pada contoh B, dapat dilihat udem berwarna biru bentuknya tidak beraturan, sehingga ditarik 4 garis berbeda untuk memperoleh diameternya yang dihitung dari rata-rata panjang 4 garis tersebut. Sebagai contoh, garis kuning panjangnya 2 cm, garis oranye 5 cm, garis biru 4 cm, dan garis merah 3 cm. Maka diameternya :  $\frac{2+5+4+3}{4} = 3,5$  cm.



Langkah-langkah analisis data diameter area pigmentasi :

1. Diameter area pigmentasi diubah menjadi luas area pigmentasi dengan menggunakan rumus luas lingkaran.

$$A = \pi \left( \frac{d}{2} \right)^2 \quad (1)$$

A = luas area pigmentasi (cm<sup>2</sup>)

$\pi$  = konstanta (3,14)

d = diameter area pigmentasi (cm)

2. Menghitung AUC (*Area Under the Curve* = Area di bawah kurva)

Dari data luas area pigmentasi dihitung nilai AUC dari jam ke-0 sampai jam ke-8, yaitu dengan metode trapezoid.

$$AUC_{0-8} = \sum_0^8 \left( \frac{(y_{n-1} + y_n)(x_n - x_{n-1})}{2} \right) \quad (2)$$

$AUC_{0-8}$  = area dibawah kurva dari jam ke-0-8 (cm<sup>2</sup>.jam)

$y_{n-1}$  = luas area pigmentasi pada jam ke-(n-1) (cm<sup>2</sup>)

$x_n$  = jam ke-n (jam)

$x_{n-1}$  = jam ke-(n-1) (jam)

3. Menghitung persen daya anti-anafilaksis

Persen penghambatan inflamasi dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Daya anti-anafilaksis (\%)} = \frac{(AUC_{0-8})_0 - (AUC_{0-8})_n}{(AUC_{0-8})_0} \times 100\% \quad (3)$$

$(AUC_{0-8})_0$  =  $AUC_{0-8}$  rata-rata kelompok kontrol negatif (cm<sup>2</sup>.jam)

$(AUC_{0-8})_n$  =  $AUC_{0-8}$  masing-masing tikus pada kelompok yang diberi senyawa uji dengan dosis sebesar n (cm<sup>2</sup>.jam)

4. Uji statistik Kolmogorov– Smirnov, GLM (General Linear Method), Scheffe.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Determinasi Tanaman Pulasari

Determinasi dilakukan dengan mencocokkan keadaan morfologi tanaman dengan buku determinasi baku (Backer dan Bakhuizen van den Brink Jr., 1963; Backer dan Bakhuizen van den Brink Jr., 1965) di BPTO Tawangmangu, Karanganyar, dengan tujuan untuk memastikan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini benar adalah pulasari yang mempunyai nama ilmiah *Alyxia reinwardtii* Bl.

Hasil determinasi tumbuhan sebagai berikut.

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b –  
22b – 23b – 24 – 25b – 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31b – 403a – 404b –  
405a – 414 – 415b – 451a – 452b – 453a – 454ab – 455b – 456b – 457b –  
458bc – 459b.....160. Apocynaceae.....1b – 3b.....15. Alyxia.....  
1b – 3b – 6a – 7b – 16a – 17b – 19a – 20b .....*Alyxia reinwardtii* Bl.

Hasil determinasi diatas menyatakan bahwa tumbuhan yang dipergunakan dalam penelitian ini merupakan pulasari dengan nama ilmiah *Alyxia reinwardtii* Bl.

## **B. Hasil Penelitian Daya Anti-anafilaksis Infusa Kulit Batang Pulasari**

Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah metode anafilaksis kutaneus aktif yang mengacu pada penelitian Shimada, *et al.*, 2004 dan Ikawati, dkk., 2006. Anafilaksis kutaneus aktif, dilakukan dengan menyuntikkan suatu antigen ke dalam kulit hewan uji yang telah disensitisasi dan kemudian akan menimbulkan reaksi anafilaksis lokal.

### **1. Orientasi dosis infusa kulit batang pulasari**

Tujuan orientasi dosis infusa kulit batang pulasari yang dilakukan sebelum penelitian adalah untuk mengetahui pada dosis berapa infusa kulit batang pulasari sudah dapat memberikan efek anti-anafilaksis, untuk kemudian dilakukan pengujian sebagai dosis minimum infusa kulit batang pulasari pada saat penelitian. Selain itu, orientasi juga dimaksudkan untuk mengetahui kenaikan dosis yang tepat untuk tingkatan dosis selanjutnya di atas dosis minimum yang akan diujikan.

Dari orientasi yang dilakukan selama kurang lebih 5 minggu, dapat diketahui ada tidaknya tingkatan dosis yang tidak menunjukkan efek anti-anafilaksis sama sekali, tingkatan dosis yang menunjukkan efek anti-anafilaksis, dan tingkatan dosis yang aman dengan melihat apakah terjadi toksisitas berupa kematian terhadap hewan uji selama perlakuan hingga akhir penelitian.

Karena penelitian ini baru pertama kali dilakukan oleh penulis (belum pernah ada metode percobaan serupa dalam praktikum pada semester-semester sebelumnya), maka orientasi ini pun merupakan kali pertama penulis

melakukan metode penelitian ini, sehingga pada awal orientasi penulis masih mengalami kesulitan dalam prosedur kerja. Dari orientasi ini, penulis belajar dari kesalahan yang pernah dilakukan selama orientasi sehingga penulis dapat memperbaiki kinerja pada saat penelitian dijalankan dan hasil penelitian yang diperoleh benar-benar valid dan dapat dipertanggungjawabkan.

Orientasi dilakukan pada tujuh kelompok hewan uji yang terdiri dari 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif, dan 5 kelompok perlakuan infusa kulit batang pulasari dengan tingkatan dosis mulai dari terendah hingga tertinggi berturut-turut 4 mg/kg BB, 8 mg/kg BB, 16 mg/kg BB, 32 mg/kg BB, dan 64 mg/kg BB.

Prosedur penelitian yang dilakukan untuk masing-masing kelompok uji sama dengan langkah kerja yang akan dilakukan pada penelitian pengujian aktivitas anti-anafilaksis infusa kulit batang pulasari (dapat dilihat pada halaman 34), yang membedakan di sini hanya jumlah kelompok hewan uji. Pada penelitian hanya menggunakan 6 kelompok hewan uji.

Hasil orientasi dosis infusa kulit batang pulasari menunjukkan luas area pigmentasi (anafilaksis) kelompok kontrol negatif nampak paling besar dibandingkan kelompok kontrol positif dan semua dosis kelompok perlakuan infusa kulit batang pulasari dan memiliki perbedaan bermakna, kecuali kelompok perlakuan dosis 4 mg/kg BB yang menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna setelah data yang diperoleh diolah secara statistik dengan uji Kolmogorov-Smirnov, GLM dengan taraf kepercayaan 95%, dan Post-Hoc Scheffe.

Daya anti-anafilaksis infusa kulit batang pulasari hasil orientasi dari terbesar hingga terkecil berturut-turut yaitu dosis 64 mg/kg BB sebesar 58.30%, dosis 32 mg/kg BB sebesar 44.55%, dosis 16 mg/kg BB sebesar 20.86%, dosis 8 mg/kg BB sebesar 12.01%.

Dosis infusa kulit batang pulasari 4 mg/kg BB tidak memberikan efek anti-anafilaksis (tidak menunjukkan adanya aktivitas anti-inflamasi pada reaksi anafilaksis yang diinduksi ovalbumin pada tikus Wistar jantan yang ditunjukkan dari udem pada punggung tikus yang ditandai dengan warna biru indikator *Evans blue* pada kelompok perlakuan infusa kulit batang pulasari pada dosis 4 mg/kg BB diameternya hampir sama dengan diameter udem punggung tikus pada kelompok kontrol yang hanya diberikan aquadest saja ( $p = 0.901$ )).

Oleh karena itu, pada penelitian selanjutnya, perlakuan infusa kulit batang pulasari pada dosis 4 mg/kg BB tidak diikutsertakan.

Dari semua kelompok hewan uji, tidak ditemukan adanya kematian hewan uji yang berarti pada dosis tertinggi sekali pun. Dosis infusa kulit batang pulasari yang diuji dalam penelitian ini masih dalam batas aman.

## **2. Daya anti-anafilaksis infusa kulit batang pulasari**

Berdasarkan hasil orientasi penetapan dosis infusa kulit batang pulasari yang telah dilakukan sebelumnya, ditetapkan dosis terendah infusa kulit batang pulasari yang berefek anti-anafilaksis adalah dosis 8 mg/kg BB. Sedangkan dosis tertinggi infusa kulit batang pulasari ditetapkan sebesar 64 mg/kg BB.

Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok yang terdiri dari 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif, dan 4 kelompok perlakuan infusa kulit batang pulasari dengan tingkatan dosis mulai dari terendah hingga tertinggi berturut-turut 8 mg/kg BB, 16 mg/kg BB, 32 mg/kg BB, dan 64 mg/kg BB.

Setelah pengelompokan hewan uji, pada hari pertama dilakukan sensitisasi dengan menyuntikkan ovalbumin 0,1 % dalam suspensi Al(OH)<sub>3</sub> 10 % dengan volume 5 ml/kg BB secara subkutan. Perhitungan volume pemberian dihitung berdasarkan berat badan tikus yang ditimbang dan dihitung dengan cara sebagai berikut.

$$\text{Volume pemberian (ml)} = \frac{\text{BB tikus (g)}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ ml}$$

Sensitisasi kedua dilakukan 7 hari setelah sensitisasi pertama dengan menyuntikkan ovalbumin 0,1 % dalam suspensi Al(OH)<sub>3</sub> 10 % dengan volume 5 ml/kg BB secara subkutan dengan perhitungan volume pemberian berdasarkan berat badan tikus yang ditimbang dan dihitung dengan cara seperti pada sensitisasi pertama.

Tujuh hari setelah sensitisasi kedua, tikus dicukur punggungnya kemudian disuntikkan larutan *Evans blue* 1,5 % dengan volume 1,75 ml/kg BB, secara intravena sebagai indikator area yang terinflamasi. Perhitungan volume pemberian sebagai berikut.

$$\text{Volume pemberian (i.v)} = \frac{\text{BB tikus}}{200 \text{ g}} \times 0,35 \text{ ml}$$

Lima belas menit setelah pemejangan larutan *Evans Blue*, dipejankan infusa kulit batang pulasari dosis 8, 16, 32 dan 64 mg/kg BB secara per oral.

Pada kelompok kontrol negatif, diberikan aquadest secara per oral. Kontrol negatif digunakan sebagai pembanding sehingga setiap hewan uji mendapat perlakuan yang sama (untuk menghilangkan bias).

Kontrol negatif dalam penelitian ini menggunakan aquadest karena aquadest digunakan sebagai pelarut dalam pembuatan infusa kulit batang pulasari. Alasan pemilihan sediaan infusa adalah pertimbangan kelarutan senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam kulit batang pulasari, yang kemungkinan mempunyai efek anti-inflamasi, antara lain saponin dan alkaloida, yang keduanya larut dalam air.

Diharapkan dalam sediaan infusa, senyawa kimia yang bersifat anti-inflamasi dalam kulit batang pulasari persentase kadarnya tinggi dan efek anti-inflamasi yang dihasilkan optimal. Selain itu, bentuk sediaan infusa dipilih karena secara turun-temurun kulit batang pulasari telah digunakan sebagai obat tradisional dalam bentuk sediaan jamu yang penggunaannya dengan cara diseduh dengan air panas.

Kelompok kontrol positif diberikan natrium kromolin dosis 2 mg/kg BB secara subkutan. Kontrol positif digunakan sebagai pembanding yang telah terbukti memiliki efek anti-anafilaksis dan telah banyak digunakan sebagai obat anti-alergi. Natrium kromolin sebagai penstabil sel mast secara tidak langsung akan memblokir influks kalsium ke dalam sel mast sehingga mencegah pelepasan mediator-mediator inflamasi. Natrium kromolin cenderung bekerja sangat baik pada pasien yang derajat alerginya sangat tinggi. Efek terapeutik utama yang dimiliki adalah inhibisi terhadap proses

degranulasi sel mast sehingga mencegah pelepasan mediator kimiawi untuk anafilaksis (*Harrison, 1991*).

Pada penelitian ini, Na-kromolin diberikan secara subkutan (tidak sama dengan infusa kulit batang pulasari dan kontrol negatif yang diberikan secara per oral) karena penggunaan Na-kromolin dalam terapi dan pengobatan, diberikan secara inhalasi dan juga dalam bentuk tetes mata, yang kedua cara tersebut sulit dilakukan pada subjek uji dan dosisnya terlalu kecil untuk diberikan secara oral. Selain itu, penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya, yaitu penelitian Ikawati, dkk, yang melakukan pemejanan Na-kromolin secara subkutan.

Pembangkitan reaksi inflamasi dilakukan 15 menit setelah pemejanan senyawa dengan menyuntikkan ovalbumin 5,25 % dalam suspensi  $Al(OH)_3$  10 % dengan volume 5 ml/kg BB secara subkutan pada punggung tikus yang telah dicukur bulunya.

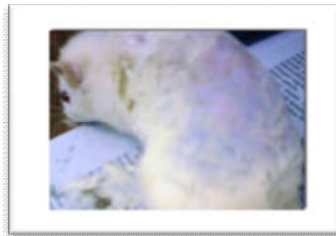
Pengamatan dilakukan setelah pembangkitan reaksi inflamasi mulai jam ke-0 hingga jam ke-8 setelah pemejanan ovalbumin dengan cara mengukur diameter area pigmentasi yang ditandai dengan warna biru pada punggung tikus.



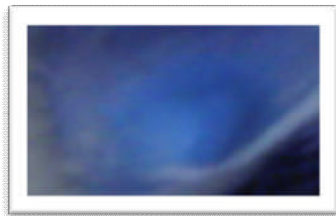
Berikut beberapa gambar diameter area pigmentasi hasil pengamatan pada jam-jam tertentu.



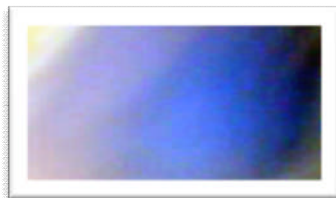
**Gambar 6.** Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Kontrol Negatif pada jam ke-0



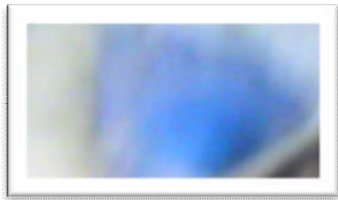
**Gambar 7.** Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Kontrol Negatif pada jam ke-2



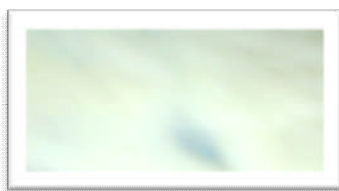
**Gambar 8.** Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Kontrol Negatif pada jam ke-5



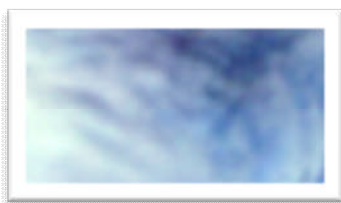
**Gambar 9.** Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Kontrol Negatif pada jam ke-6



**Gambar 10.** Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Kontrol Negatif pada jam ke-8



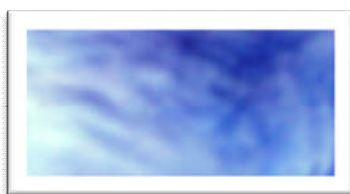
**Gambar 11.** Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Infusa Kulit Batang Pulasari 64 mg/kg BB pada jam ke-1



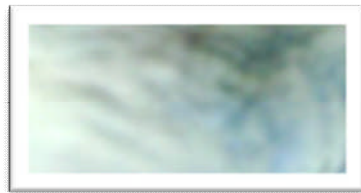
**Gambar 12.** Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Infusa Kulit Batang Pulasari 64 mg/kg BB pada jam ke-3



**Gambar 13.** Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Infusa Kulit Batang Pulasari 64 mg/kg BB pada jam ke-5



**Gambar 14.** Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Infusa Kulit Batang Pulasari 64 mg/kg BB pada jam ke-6



**Gambar 15.** Pengamatan Diameter Area Pigmentasi Kelompok Infusa Kulit Batang Pulasari 64 mg/kg BB pada jam ke-8

Data yang diperoleh lalu dianalisis dan diuji dengan Kolmogorov-Smirnov dan hasilnya semua data terdistribusi secara normal. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov untuk memastikan data hasil penelitian terdistribusi normal.

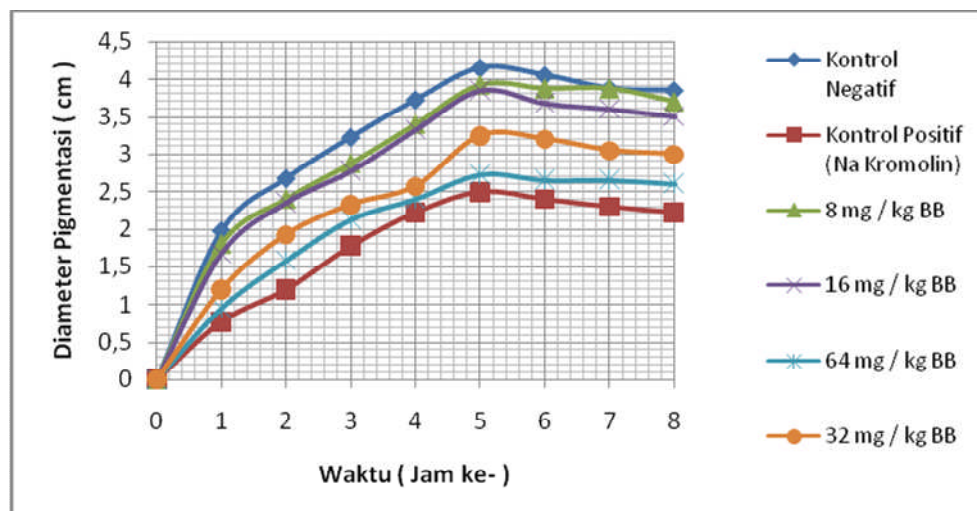
Data juga dianalisis dengan uji GLM. Alasan pemilihan uji GLM yaitu variabel *dependent* dalam penelitian ini termasuk variabel *continuous* (diameter area pigmentasi) dan diukur berulang-ulang (selama 8 jam), variabel *independent* termasuk variabel *discreet* (jumlahnya 1), serta tidak ada data berpasangan. GLM digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan secara intens. Perbedaan hasil uji kelompok perlakuan dinyatakan bermakna apabila taraf signifikansi  $< 0.05$ . Hasilnya data antar kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna ( $< 0.05$ ), kecuali pada data diameter yang diamati pada jam ke-0.

Untuk taraf signifikansi  $< 0.05$  dilanjutkan dengan uji Scheffe taraf kepercayaan 95% untuk menentukan perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan.

**Tabel I.** Signifikansi Data Kelompok Perlakuan dan Kontrol (Luas Area Pigmentasi)

Kelompok \ Kelompok	1	2	3	4	5	Keterangan :
1		BB	BB	BB	BB	1 = Kontrol negatif (aquadest)
2	BB		BB	BB	BB	2 = Kontrol positif (Na-kromolin 2 mg/kg)
3	BB	BB		BTB	BB	3 = Infusa Kulit Batang Pulasari 8 mg/kg
4	BB	BB	BTB		BB	4 = Infusa Kulit Batang Pulasari 16 mg/kg
5	BB	BB	BB	BB		5 = Infusa Kulit Batang Pulasari 32 mg/kg
6	BB	BTB	BB	BB	BB	6 = Infusa Kulit Batang Pulasari 64 mg/kg
						BB = Berbeda Bermakna
						BTB = Berbeda Tidak Bermakna

Diperoleh hasilnya, antar kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna tiap jamnya, kecuali antara kelompok dosis 8 mg/kg BB dan dosis 16 mg/kg BB ( $p = 0.373$ ). Hal ini mungkin disebabkan selisih dosis tidak terlalu jauh, dibandingkan selisih antara kedua dosis tersebut dengan dua tingkatan dosis di atasnya. Hasil analisis statistik dapat dilihat pada lampiran.



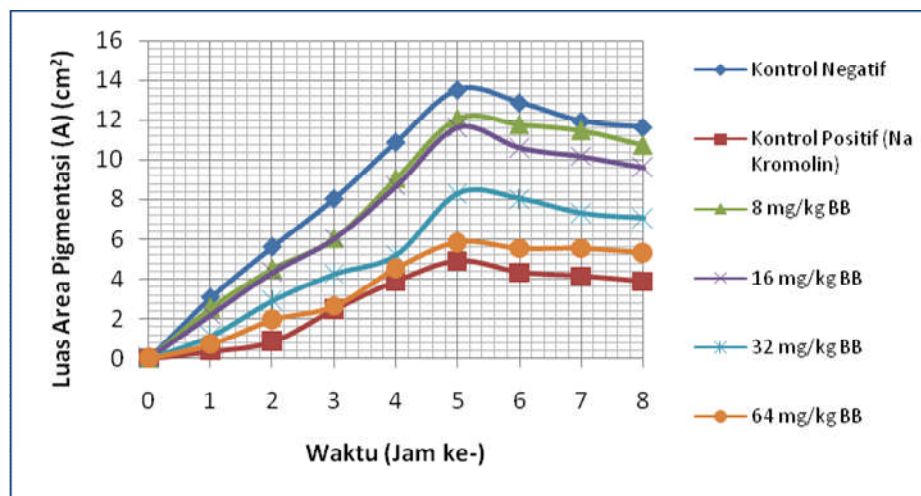
**Gambar 16.** Kurva Diameter Area Pigmentasi terhadap Waktu dengan atau Tanpa Perlakuan Infusa Pulasari beserta Na-kromolin (2 mg/kg BB)

Dari kurva di atas, diameter area pigmentasi rata-rata tiap kelompok uji dari terkecil hingga terbesar berturut-turut yaitu kontrol positif, infusa kulit batang pulasari 64 mg/kg, 32 mg/kg, 16 mg/kg, 8 mg/kg, dan kontrol negatif.

Data diameter area pigmentasi kemudian diubah menjadi luas area pigmentasi dengan menggunakan rumus luas lingkaran. Hasil perhitungan yang diperoleh lalu diuji dengan Kolmogorov-Smirnov dan hasilnya semua data terdistribusi secara normal.

Data juga dianalisis dengan uji GLM. Hasilnya data antar kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna ( $< 0.05$ ), kecuali pada data luas area pigmentasi pada jam ke-0.

Untuk uji dengan taraf signifikansi  $< 0.05$  dapat dilanjutkan dengan uji Post-Hoc Scheffe dengan taraf kepercayaan 95% untuk menentukan perbedaan yang bermakna tersebut antar kelompok perlakuan. Diperoleh hasilnya, antar kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna tiap jamnya, kecuali antara kelompok dosis 8 mg/kg BB dan dosis 16 mg/kg BB. Hal ini mungkin disebabkan selisih dosis tidak terlalu jauh, dibandingkan selisih antara kedua dosis tersebut dengan dua tingkatan dosis di atasnya. Selain itu kelompok perlakuan dosis 64 mg/kg BB juga tidak memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kontrol positif (Na-kromolin 2 mg/kg BB) untuk statistik luas area pigmentasi ( $p = 0.096$ ), yang berarti efek pengurangan luas area pigmentasi (udem) yang dihasilkan infusa kulit batang pulasari 64 mg/kg BB tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif (Na-kromolin 2 mg/kg BB).



**Gambar 17.** Kurva Luas Area Pigmentasi terhadap Waktu dengan atau tanpa Perlakuan Infusa Pulasari beserta Na-kromolin (2 mg/kg BB)

Dari kurva di atas, dapat dilihat luas area pigmentasi rata-rata masing-masing kelompok uji dari terkecil hingga terbesar berturut-turut yaitu kontrol positif (natrium kromolin 2 mg/kg BB), infusa kulit batang pulasari 64 mg/kg BB, infusa kulit batang pulasari 32 mg/kg BB, infusa kulit batang pulasari 16 mg/kg BB, infusa kulit batang pulasari 8 mg/kg BB, dan kontrol negatif.

Kurva luas area pigmentasi kelompok kontrol negatif nampak paling besar dibandingkan kelompok yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa sensitisasi maupun pembangkitan inflamasi imunologi oleh ovalbumin berhasil. Setelah perlakuan Na-kromolin dosis 2 mg/kg BB (kontrol positif), luas area pigmentasi dari waktu ke waktu jauh lebih kecil dibandingkan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian Na-kromolin mampu menghambat inflamasi yang ditimbulkan akibat induksi ovalbumin.

Kemampuan mengurangi udem yang ditunjukkan dari semakin kecilnya luas area pigmentasi biru pada punggung tikus, berturut-turut dari yang paling besar yaitu kontrol positif (Na-kromolin 2 mg/kg BB), infusa kulit batang

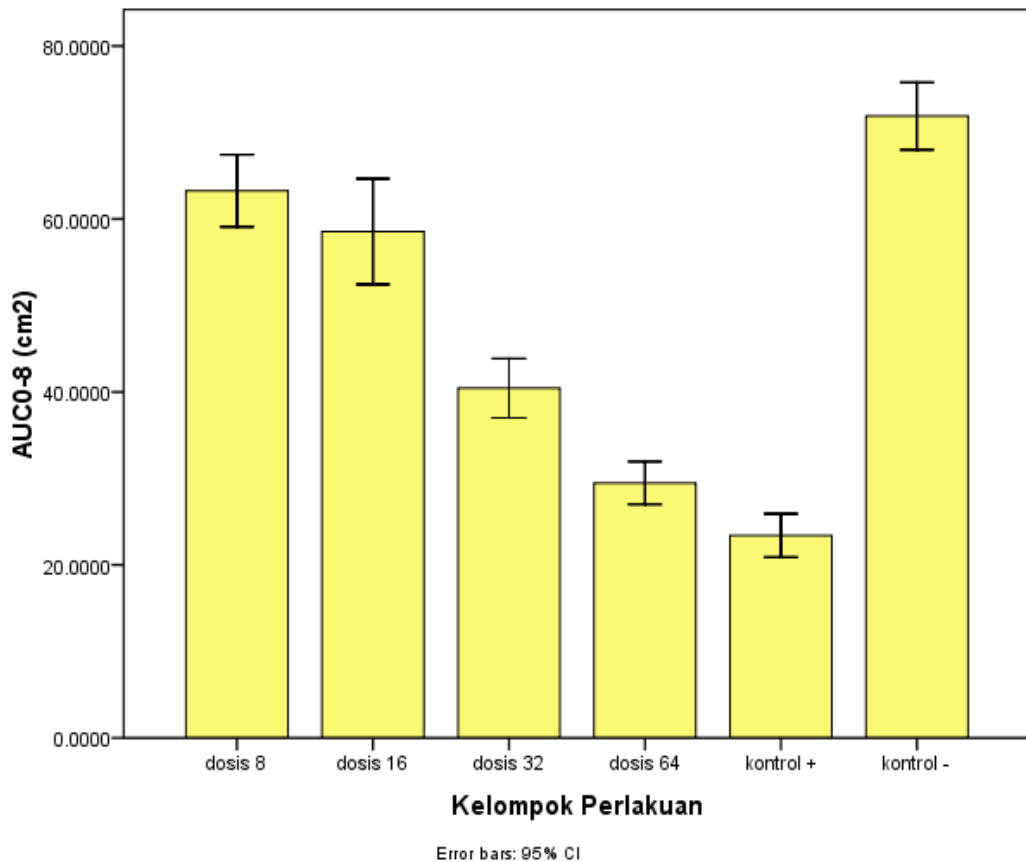
pulasari 64 mg/kg BB, infusa kulit batang pulasari 32 mg/kg BB, infusa kulit batang pulasari 16 mg/kg BB, infusa kulit batang pulasari 8 mg/kg BB, dan kontrol negatif (aquadest).

Trend statistik menunjukkan bahwa pada semua kelompok perlakuan, terjadinya udem atau respon inflamasi terbesar terjadi pada jam ke-5 setelah pembangkitan reaksi inflamasi (puncak alergi terjadi pada jam ke-5).

Dari data luas area pigmentasi, kemudian dihitung nilai AUC dari jam ke-0 sampai jam ke-8, yaitu dengan metode trapezoid. Pengamatan hanya dilakukan selama 8 jam setelah pembangkitan reaksi inflamasi karena pada jam tersebut reaksi anafilaksis (yang ditandai udem) masih terjadi secara lokal (pada punggung tikus), sedangkan pada jam-jam berikutnya dapat terjadi reaksi alergi secara sistemik (luas), sehingga pengamatan yang valid lebih sulit dilakukan.

Hasil perhitungan yang diperoleh lalu diuji dengan Kolmogorov-Smirnov dan hasilnya semua data terdistribusi secara normal.

Data juga dianalisis dengan uji GLM. Hasilnya data antar kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna ( $< 0.05$ ). Untuk uji dengan taraf signifikansi  $< 0.05$  dapat dilanjutkan dengan Post-Hoc Scheffe dengan taraf kepercayaan 95% untuk menentukan pada kelompok perlakuan mana yang berbeda atau tidak berbeda bermakna.



**Gambar 18.** Diagram batang perbandingan AUC<sub>0-8</sub> luas area pigmentasi (cm<sup>2</sup>) terhadap waktu (jam) dengan atau tanpa perlakuan infusa kulit batang pulasari beserta Na-kromolin (2 mg/kg BB) (n=4)

Dari kurva di atas, dapat dilihat luas area pigmentasi jam ke 0-8 masing-masing kelompok uji dari terkecil hingga terbesar berturut-turut yaitu kontrol positif (natrium kromolin 2 mg/kg BB), infusa kulit batang pulasari 64 mg/kg BB, infusa kulit batang pulasari 32 mg/kg BB, infusa kulit batang pulasari 16 mg/kg BB, infusa kulit batang pulasari 8 mg/kg BB, dan kontrol negatif. Antar kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna, kecuali antara kelompok dosis 8 mg/kg BB dan dosis 16 mg/kg BB.



**Tabel II.** AUC<sub>0-8</sub> luas area pigmentasi (cm<sup>2</sup>) terhadap waktu (jam) dengan atau tanpa perlakuan infusa kulit batang pulasari beserta Na-kromolin (2 mg/kg BB) (n=4)

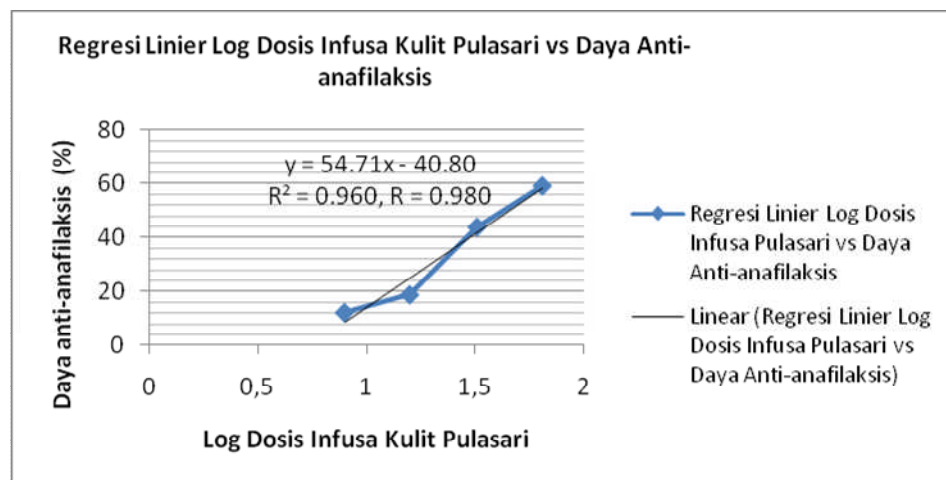
Kelompok perlakuan	AUC <sub>0-8</sub> (cm <sup>2</sup> .jam)
Aquadest (kontrol negatif)	71.90 ± 2.45
Natrium kromolin 2 mg/kg BB (kontrol positif)	23.41 ± 1.57*
Infusa kulit batang pulasari 8 mg/kg BB	63.26 ± 2.62*
Infusa kulit batang pulasari 16 mg/kg BB	58.54 ± 3.45*
Infusa kulit batang pulasari 32 mg/kg BB	40.44 ± 2.15*
Infusa kulit batang pulasari 64 mg/kg BB	29.48 ± 1.56*

Data AUC<sub>0-8</sub> yang ditampilkan merupakan nilai rata-rata ± SEM (n=4)

\* berbeda bermakna dengan kontrol negatif (p < 0,05)

Langkah terakhir pengolahan data yaitu menghitung persen daya anti-anafilaksis tiap kelompok uji.

Hasil yang diperoleh menunjukkan daya anti-anafilaksis terbesar hingga terkecil berturut-turut yaitu kontrol positif 67.44%, infusa kulit batang pulasari 64 mg/kg 59.00%, infusa kulit batang pulasari 32 mg/kg 43.75%, infusa kulit batang pulasari 16 mg/kg 18.57%, infusa kulit batang pulasari 8 mg/kg 12.01%.



**Gambar 19.** Regresi Linier Log Dosis Infusa Kulit Batang Pulasari terhadap Daya Anti-anafilaksis

Hasil penelitian menunjukkan infusa kulit batang pulasari memiliki daya anti-anafilaksis dengan adanya kenaikan tiap peningkatan dosis, yang tidak menunjukkan hubungan linier antara dosis dengan daya anti-anafilaksis ( $y=0.85x+7.75$ ;  $R^2 = 0.929$ ), namun menunjukkan hubungan linier antara log dosis dengan daya anti-anafilaksis ( $y = 54.71x - 40.80$ ;  $R^2 = 0.96$ ;  $R = 0.98$ ).

Pada penelitian ini menggunakan 4 peringkat dosis (disebut nilai  $n$ ), sehingga *degree of freedom* ( $df$ ) adalah  $n-2$ , yaitu 2, dengan taraf kepercayaan 95% ( $p < 0.05$ ),  $R^2$  tabel 0.95 dan  $R$  tabel 0.97. Berarti log dosis infusa kulit batang pulasari dan daya anti-anafilaksis memiliki hubungan yang linier.

Dari persamaan regresi linier dosis terhadap daya anti-anafilaksis, dihitung nilai  $ED_{50}$  infusa kulit batang pulasari, yaitu sebesar 49.71 mg/kg BB. Jadi, pada dosis 49.71 mg/kg BB, infusa kulit batang pulasari dapat menghambat reaksi anafilaksis (mengurangi udem) sebesar 50%.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Infusa kulit batang pulasari dapat menghambat inflamasi imunologis akibat reaksi anafilaksis kutaneus aktif yang diinduksi ovalbumin pada tikus Wistar jantan.
2. Daya anti-anafilaksis infusa kulit batang pulasari, berdasarkan skala logaritmik, dari terbesar hingga terkecil berturut-turut yaitu dosis 64 mg/kg BB sebesar 59.00%, dosis 32 mg/kg BB sebesar 43.75%, dosis 16 mg/kg BB sebesar 18.57%, dosis 8 mg/kg BB sebesar 12.01%. Infusa kulit batang pulasari mempunyai daya anti-anafilaksis yang peningkatan efeknya sebanding dengan kenaikan dosis dengan  $ED_{50}$  sebesar 49.71 mg/kg BB.

## **B. Saran**

Berdasarkan hasil penelitian, penulis menyarankan:

1. Perlu dilakukan identifikasi dan isolasi senyawa aktif yang terkandung dalam kulit batang pulasari yang berperan dalam memberikan efek anti-anafilaksis.
2. Perlu dilakukan penelitian daya anti-anafilaksis terhadap masing-masing senyawa aktif yang terkandung dalam kulit batang pulasari, sehingga dapat diketahui senyawa aktif yang berperan dalam memberikan efek anti-anafilaksis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H. Pober, J. S., Stiehm E. R., Fulginiti V. A., 2000, *Immunologic disorders in infants & children*, 5<sup>th</sup> edition, 1-5, The Curtis Center, Philadelphia
- Agustina, 1984, Analisa Kualitatif *Alyxia reinwardtii* Bl. Cortex (Kulit Pulasari) dalam Ramuan Obat Tradisional dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Ahmad, F., Salahuddin, A., 1972, The Denatured State of Ovalbumin, *Biochem J*, 128, 49P
- Aji, S.A, 1994, Efek Ekstrak Kortex Pulasari (*Alyxia reinwardtii* Bl.) terhadap Trakea Marmot *in vitro*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Anonim, 1977, *Materia Medika Indonesia*, jilid I, 7-9, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Anonim, 1983, *Pemanfaatan Tanaman Obat*, edisi III, 40, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Anonim, 1985, *Cara Pembuatan Simplisia*, 1-5, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Anonim, 1986, *Medicinal Herb Index in Indonesia-Index Tumbuh-tumbuhan Obat di Indonesia*, 257, PT Eisai Indonesia, Jakarta
- Anonim, 1992, *Undang-Undang Republik Indonesia No. 23 tentang Kesehatan*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, 9, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Anonim, 2003, <http://www.revophth.com/Images/rpc3.cl.art.jpg>, diakses tanggal 2 September 2009
- Anonim, 2004, *Informasi Jamu Pulosari (Alyxia stellata)*, [www.asiamaya.com/jamu/isi/pulosarialyxistellata.htm](http://www.asiamaya.com/jamu/isi/pulosarialyxistellata.htm), diakses tanggal 11 Agustus 2009

- Anonim, 2005, *Songgolangit Gulma Segudang Khasiat*, <http://id.shvoong.com/medicine-and-health/1918885/>, diakses tanggal 24 September 2009
- Anonim a, 2008, *Tata Laksana Asma*, <http://keluargasehat.wordpress.com/2008/03/28/>, diakses tanggal 18 Maret 2009
- Anonim b, 2008, *Alkaloid*, <http://medicafarma.blogspot.com/2008/08/alkaloid.html>, diakses tanggal 24 September 2009
- Anonim a, 2009, *Sembuhkan Radang dengan Belimbing*, <http://www.sripoku.com/view/16905/>, diakses tanggal 24 September 2009
- Anonim b, 2009, *Peran Alkaloid Sebagai Anti-Inflamasi*, <http://www.litbang.depkes.go.id/risbinkes/alkaloid+inflamasi>, diakses tanggal 24 September 2009
- Anonim c, 2009, *Empat Tanaman Obat untuk Asam Urat*, <http://anazhahara.wordpress.com/2009/06/04/empat-tanaman-obat-untuk-asam-urat/>, diakses tanggal 24 September 2009
- Anonim d, 2009, <http://rac.uui.ac.id/index.php/record/view/77446>, diakses tanggal 24 September 2009
- Ariyanti, V. N. W, 2000, Daya Analgetika Infusa dan Ekstrak Etanol Kulit Batang Pulasari (*Alyxia reinwardtii* Bl.) pada Mencit Putih Betina, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Sanata Dharma, Yogyakarta
- Baratawidjaja, K., 1990, *Konsep pemikiran untuk menggunakan sodium kromoglikat sebagai obat pilihan utama pada pengobatan asma bronkial kronik*, 846-850, Medika, Jakarta
- Baratawidjaja, K. G, 2000, *Imunologi Dasar*, Edisi keempat, 107-129, Balai Penerbit FKUI, Jakarta
- Benjamini, E., Coico, R., Sunshine, G., 2000, *Immunology A Short Course*, 4<sup>th</sup> edition, 279-328, Wiley-Liss Inc., New York
- Dale, M.M., Foreman, J.C., and Fan, T. D., 1994, *Textbook of Immunopharmacology*, 3<sup>rd</sup> edition, 21-34, Blackwell Scientific Publication, Oxford
- Dzulkarnain, B., Astuti, Y., Nurendah, P. S., 1996, Keamanan dan Daya Racun Tanaman Obat Indonesia, Edisi Khusus, *Cermin Dunia Farmasi*, **27**(1996): hal: 9, Departemen Kesehatan, Jakarta

- Fothergill, L., Fothergill, J., 1968, Disulphide Bonds of Ovalbumins, *Biochem J*, 110, 36P
- Garrison, I.C., 1991, *Histamine, Bradykinin, 5-Hydroxy-tryptamine, and their Antagonist*, Volume 1, 579, 580, 588, 593, Pergamon Press , New York
- Ghaffar, Abdul, 2007, [Immunology - Chapter Seventeen: Hypersensitivity Reactions](#), Microbiology and Immunology On-Line Textbook, USC School of Medicine
- Harrison, 1991, *Penyakit Asma Dalam Prinsip-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam*, Edisi 13, 1311 – 1380, EGC, Jakarta
- Henson, P. M., 1993, Mekanisme Injuri Jaringan yang Dihasilkan oleh Reaksi Immunologik, dalam Bellanti, J.A., *Imunologi III*, diterjemahkan oleh Wahab, A.S., cetakan pertama, 234-244, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Heyne, 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid 1-4, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Jakarta
- Ikawati, Z., Margono, S. A., Pancawati, E., 2006, Efek Pentagamavunon-1 (PGV-1) Terhadap Reaksi Anafilaksis Kutaneus Aktif Yang Diinduksi Ovalbumin pada Tikus Wistar Jantan, *Artocarpus*, 7 (1): hal: 21-28
- Inagaki, N., Miura, T., Nagai, H., Koda, A., 1992, Active cutaneous anaphylaxis (ACA) in the mouse ear, *Jpn. J Pharmacol*, 201(1992): hal: 8
- Kresno, S.B., 2001, *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, 137-145, Balai Penerbit FKUI, Jakarta
- Li-Chan, E., Nakai, S., 1989, Biochemical basis for the properties of egg white, *Critical Reviews in Poultry Biology*, 21-57
- Mursito, B., 2000, *Tampil Percaya Diri dengan Ramuan Tradisional*, 104, Penebar Swadaya, Jakarta
- Rendeng, M. L., 2000, Daya Analgetik Infusa dan Ekstrak Aseton Daun Pulasari (*Alyxia reinwardtii* Bl.) pada Mencit Putih Betina, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta
- Subowo, 1993, *Imunologi Klinik*, 9-35, Angkasa, Bandung

- Sudarman, M., Harsono, R., 1985, *Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang*, 27, PN Balai Pustaka, Jakarta
- Sulistyo, 2000, *Resep Ramuan Tradisional*, Buku kedua, 238-241, Pioner Jaya, Bandung
- Sundari, Dian, 2001, *Uji Daya Antibakteri Infus dan Ekstrak Kulit Batang Pulosari (Alyxia reinwardtii Bl.) secara In-vitro dan Uji Toksisitas (LD<sub>50</sub>) Ekstrak Kulit Batang Pulosari (Alyxia reinwardtii Bl.)*, Center for Research and Development of Pharmacy and Traditional Medicine (NIHRD), Jakarta
- Syamsuhidayat, S. S., Hutapea, J. R., 1991, *Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia*, Jilid I, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan, Jakarta
- Terr, 1994, *Basic & Clinical Immunology*, 8<sup>th</sup> edition, 137-150, Appleton & Lange, Connecticut
- Terr, A. I., 1997, Inflammation, dalam Stities D. P., Terr, A. I., Parslow, T. G., *Medical Immunology*, 9<sup>th</sup> edition, 182-195, Prentice Hall International, London
- Thomas, A. N. S., 1992, *Tanaman Obat Tradisional II*, 7-8, Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- Tjitrosoepomo, G., 1994, *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*, 130-131, 308, 320, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Triyanto, 1992, Identifikasi Struktur Senyawa Terisolasi dari Fraksi DCM Kulit Pulasari (*Alyxia reinwardtii* Bl.) dengan Spektrometri, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta



**Lampiran 1.** Foto Serbuk Pulasari



**Lampiran 2.** Foto Infusa Kulit Batang Pulasari



**Lampiran 3.** Foto Produk Tradisional dengan Komposisi Pulasari



**Lampiran 4.** Foto Larutan Ovalbumin 5.25 %



**Lampiran 5.** Foto Tikus Wistar Jantan



**Lampiran 6.** Foto Punggung Tikus Setelah Dicukur



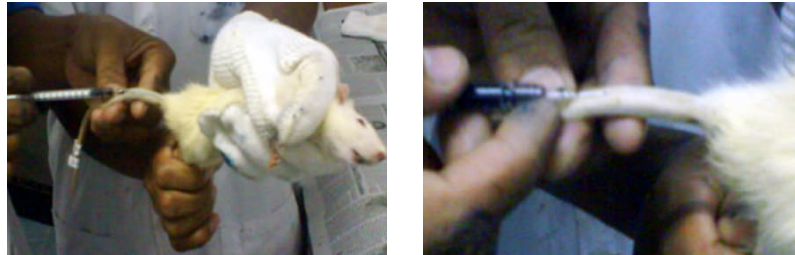
**Lampiran 7.** Foto Larutan *Evans Blue* 1.5 %



**Lampiran 8.** Foto Pemejanaan Ovalbumin 5.25 % pada Punggung Tikus secara subkutan



**Lampiran 9.** Foto Pemejanaan Larutan *Evans Blue* 1.5% melalui Vena Ekor Tikus



**Lampiran 10.** Data Orientasi Pengamatan Diameter Area Pigmentasi (cm)

1. Kontrol Negatif

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	2.2	2.7	3.2	3.7	4.2	4	3.8	3.8
2	0	1.9	2.6	3.3	3.7	4	4.3	3.9	3.8
3	0	1.9	2.5	3.3	3.8	4.1	4	3.9	3.8
4	0	2.1	2.7	3.2	3.6	4.3	4.1	4	3.9
Mean	0	2.025	2.625	3.25	3.7	4.15	4.1	3.875	3.825

2. Kontrol Positif

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	0.7	1.1	1.7	2.2	2.5	2.3	2.2	2.1
2	0	0.7	1.2	1.8	2.3	2.6	2.3	2.4	2.3
3	0	0.7	1.4	1.7	2.2	2.4	2.4	2.3	2.2
4	0	0.8	1.3	1.7	2.3	2.5	2.4	2.4	2.3
Mean	0	0.725	1.25	1.725	2.25	2.5	2.35	2.325	2.225

3. Infusa Pulasari 4 mg/kg BB

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	2	2.6	3.3	3.6	4.3	4.1	4	3.8
2	0	2.1	2.5	3.4	3.8	4.4	4.3	4.2	4
3	0	2.2	2.7	3.3	3.7	4.3	4.2	4.2	4.1
4	0	1.9	2.5	3.2	3.5	4.3	4.2	4.1	4
Mean	0	2.05	2.575	3.3	3.65	4.325	4.2	4.125	3.975

## 4. Infusa Pulasari 8 mg/kg BB

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	1.8	2.6	2.9	3.4	4	3.9	3.8	3.7
2	0	1.9	2.5	3.1	3.5	4	3.9	3.8	3.7
3	0	1.8	2.4	2.8	3.4	4	3.9	3.9	3.8
4	0	1.8	2.3	2.7	3.3	3.8	3.8	3.7	3.7
Mean	0	1.825	2.45	2.875	3.4	3.95	3.875	3.8	3.725

## 5. Infusa Pulasari 16 mg/kg BB

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	1.7	2.3	2.7	3.2	3.7	3.7	3.6	3.5
2	0	1.8	2.5	2.8	3.4	3.9	3.7	3.7	3.5
3	0	1.6	2.4	2.9	3.5	4	3.8	3.6	3.6
4	0	1.5	2.2	3	3.4	3.7	3.5	3.5	3.4
Mean	0	1.65	2.35	2.85	3.375	3.825	3.675	3.6	3.5

## 6. Infusa Pulasari 32 mg/kg BB

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	1	2	2.4	2.6	3.3	3.2	3.1	2.9
2	0	1.2	1.7	2.3	2.5	3.4	3.2	3.2	3
3	0	1.4	1.5	2.2	2.5	3.1	3.1	3	3.1
4	0	1.3	1.9	2.4	2.7	3.4	3.3	3.1	3
Mean	0	1.225	1.775	2.325	2.575	3.3	3.2	3.05	3

## 7. Infusa Pulasari 64 mg/kg BB

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	1	1.6	1.8	2.4	2.7	2.6	2.6	2.5
2	0	1	1.6	2	2.2	2.8	2.7	2.7	2.6
3	0	0.8	1.5	2.2	2.4	2.9	2.8	2.7	2.7
4	0	0.8	1.5	2.3	2.3	3	2.9	2.8	2.6
Mean	0	0.9	1.55	2.075	2.325	2.85	2.75	2.7	2.6

**Lampiran 11. Data Orientasi Luas Area Pigmentasi (A) (cm<sup>2</sup>)****1. Kontrol Negatif**

Jam ke- Replikasi	0	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0	3.7994	5.7227	8.0384	10.7467	13.8474	12.56	11.3354	11.3354
2	0	2.8339	5.3066	8.5487	10.7467	12.56	14.5147	11.9399	11.3354
3	0	2.8339	4.9063	8.5487	11.3354	13.1959	12.56	11.9399	11.3354
4	0	3.4619	5.7227	8.0384	10.1736	14.5147	13.1959	12.56	11.9399
<b>Mean</b>	<b>0</b>	<b>3.2323</b>	<b>5.4146</b>	<b>82936</b>	<b>10.7506</b>	<b>13.5295</b>	<b>12.8819</b>	<b>11.9438</b>	<b>11.4865</b>

**2. Kontrol Positif**

Jam ke- Replikasi	0	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0	0.3847	0.9499	2.2687	3.7994	4.9063	4.1527	3.7994	3.4619
2	0	0.3847	1.1304	2.5434	4.1527	5.3066	4.1527	4.5216	4.1527
3	0	0.3847	1.5386	2.2687	3.7994	4.5216	4.5216	4.1527	3.7994
4	0	0.5024	1.3267	2.2687	4.1527	4.9063	4.5216	4.5216	4.1527
<b>Mean</b>	<b>0</b>	<b>0.4141</b>	<b>1.2364</b>	<b>2.3374</b>	<b>3.9761</b>	<b>4.9102</b>	<b>4.3372</b>	<b>4.2488</b>	<b>3.8917</b>

**3. Infusa Pulasari 4 mg/kg BB**

Jam ke- Replikasi	0	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0	3.14	5.3066	8.5487	10.1736	14.5147	13.1959	12.56	11.3354
2	0	3.4619	4.9063	9.0746	11.3354	11.9399	14.5147	13.8474	12.56
3	0	3.7994	5.7227	8.5487	10.7467	14.5147	13.8474	13.8474	13.1959
4	0	2.8339	4.9063	8.0384	9.6163	13.8474	13.8474	13.1959	12.56
<b>Mean</b>	<b>0</b>	<b>3.3088</b>	<b>5.2105</b>	<b>8.5526</b>	<b>10.468</b>	<b>13.7042</b>	<b>13.8514</b>	<b>13.3627</b>	<b>12.4128</b>

**4. Infusa Pulasari 8 mg/kg BB**

Jam ke- Replikasi	0	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0	2.5434	5.3066	5.7227	9.0746	12.56	11.9399	11.3354	10.7467
2	0	2.8339	4.9063	6.1544	9.6163	12.56	11.9399	11.3354	10.7467
3	0	2.5434	4.5216	6.6019	9.0746	12.56	11.9399	11.9399	11.3354
4	0	2.5434	4.1527	5.7227	8.5487	11.3354	11.3354	11.3354	10.7467
<b>Mean</b>	<b>0</b>	<b>2.6160</b>	<b>4.7218</b>	<b>6.0504</b>	<b>9.0786</b>	<b>12.2539</b>	<b>11.7888</b>	<b>11.4865</b>	<b>10.7506</b>

**5. Infusa Pulasari 16 mg/kg BB**

Jam ke- Replikasi	0	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0	2.2687	4.1527	5.7227	8.0384	12.5967	10.7467	10.1736	9.6163
2	0	2.5434	4.9063	6.1544	9.0746	11.9399	10.7467	12.5967	9.6163
3	0	2.0096	4.5216	6.6019	9.6163	12.56	11.3354	10.1736	10.1736
4	0	1.7663	3.7994	7.065	9.0746	10.7467	9.6163	9.6163	9.0746
<b>Mean</b>	<b>0</b>	<b>2.147</b>	<b>4.345</b>	<b>6.386</b>	<b>8.951</b>	<b>11.9608</b>	<b>10.6113</b>	<b>10.6401</b>	<b>9.6202</b>

## 6. Infusa Pulasari 32 mg/kg BB

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	0.785	3.14	4.5216	5.3066	8.5487	8.0384	7.5439	6.6019
2	0	1.1304	2.2687	4.1527	4.9063	9.0746	8.0384	7.065	7.065
3	0	1.5386	1.7663	3.7994	4.9063	7.5439	7.5439	7.065	7.5439
4	0	1.3267	2.8339	4.5216	5.7227	9.0746	8.5487	7.5439	7.065
<b>Mean</b>	<b>0</b>	<b>1.1952</b>	<b>2.5022</b>	<b>4.2488</b>	<b>5.2105</b>	<b>8.5605</b>	<b>8.0424</b>	<b>7.3045</b>	<b>7.069</b>

## 7. Infusa Pulasari 64 mg/kg BB

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	0.785	2.0096	2.5434	4.5216	5.7227	5.3066	5.3066	4.9063
2	0	0.785	2.0096	3.14	3.7994	6.1544	5.7227	5.7227	5.3066
3	0	0.5024	1.7663	3.7994	4.5216	6.6019	6.1544	5.7227	5.7227
4	0	0.5024	1.7663	4.1527	4.1527	7.065	6.6019	6.1544	5.3066
<b>Mean</b>	<b>0</b>	<b>0.6437</b>	<b>1.888</b>	<b>3.4089</b>	<b>4.2488</b>	<b>6.386</b>	<b>5.9464</b>	<b>5.7266</b>	<b>5.3106</b>

**Lampiran 12.** Data Perhitungan AUC<sub>0-8</sub> (cm<sup>2</sup>.jam)

## Kontrol Negatif

Replikasi	1	2	3	4
	73.2569 cm <sup>2</sup> .jam	67.7798 cm <sup>2</sup> .jam	72.4721 cm <sup>2</sup> .jam	78.1754 cm <sup>2</sup> .jam
Rata-rata	72.9211 cm <sup>2</sup> .jam			

## Kontrol Positif

Replikasi	1	2	3	4
	23.0856 cm <sup>2</sup> .jam	20.4253 cm <sup>2</sup> .jam	24.1136 cm <sup>2</sup> .jam	20.9464 cm <sup>2</sup> .jam
Rata-rata	22.1427 cm <sup>2</sup> .jam			

## Infusa Pulasari 4 mg/kg BB

Replikasi	1	2	3	4
	73.1054 cm <sup>2</sup> .jam	75.3604 cm <sup>2</sup> .jam	77.6251 cm <sup>2</sup> .jam	72.5659 cm <sup>2</sup> .jam
Rata-rata	74.6764 cm <sup>2</sup> .jam			

## Infusa Pulasari 8 mg/kg BB

Replikasi	1	2	3	4
	64.2649 cm <sup>2</sup> .jam	62.1708 cm <sup>2</sup> .jam	65.6312 cm <sup>2</sup> .jam	61.1364 cm <sup>2</sup> .jam
Rata-rata	63.3008 cm <sup>2</sup> .jam			

## Infusa Pulasari 16 mg/kg BB

Replikasi	1	2	3	4
	57.1436 cm <sup>2</sup> .jam	58.3211 cm <sup>2</sup> .jam	60.1589 cm <sup>2</sup> .jam	55.2135 cm <sup>2</sup> .jam
Rata-rata	57.7093 cm <sup>2</sup> .jam			

Infusa Pulasari 32 mg/kg BB

Replikasi	1	2	3	4
	40.6355 cm <sup>2</sup> .jam	40.1632 cm <sup>2</sup> .jam	39.1156 cm <sup>2</sup> .jam	41.8356 cm <sup>2</sup> .jam
Rata-rata	40.4375 cm <sup>2</sup> .jam			

Infusa Pulasari 64 mg/kg BB

Replikasi	1	2	3	4
	29.3522 cm <sup>2</sup> .jam	32.1487 cm <sup>2</sup> .jam	30.9553 cm <sup>2</sup> .jam	29.1754 cm <sup>2</sup> .jam
Rata-rata	30.4079 cm <sup>2</sup> .jam			

**Lampiran 13.** Data Orientasi Perhitungan Persen Daya Anti-anafilaksis

Kontrol Positif

$$\text{Daya anti-anafilaksis (\%)} = \frac{72.9211 \text{ cm}^2.\text{jam} - 22.1427 \text{ cm}^2.\text{jam}}{72.9211 \text{ cm}^2.\text{jam}} \times 100 \% = 69.63 \%$$

Infusa Pulasari 4 mg/kg BB

$$\text{Daya anti-anafilaksis (\%)} = \frac{72.9211 \text{ cm}^2.\text{jam} - 74.6764 \text{ cm}^2.\text{jam}}{72.9211 \text{ cm}^2.\text{jam}} \times 100 \% = -2.41 \%$$

Infusa Pulasari 8 mg/kg BB

$$\text{Daya anti-anafilaksis (\%)} = \frac{72.9211 \text{ cm}^2.\text{jam} - 63.3008 \text{ cm}^2.\text{jam}}{72.9211 \text{ cm}^2.\text{jam}} \times 100 \% = 12.01 \%$$

Infusa Pulasari 16 mg/kg BB

$$\text{Daya anti-anafilaksis (\%)} = \frac{72.9211 \text{ cm}^2.\text{jam} - 57.7093 \text{ cm}^2.\text{jam}}{72.9211 \text{ cm}^2.\text{jam}} \times 100 \% = 20.86 \%$$

Infusa Pulasari 32 mg/kg BB

$$\text{Daya anti-anafilaksis (\%)} = \frac{72.9211 \text{ cm}^2.\text{jam} - 40.4375 \text{ cm}^2.\text{jam}}{72.9211 \text{ cm}^2.\text{jam}} \times 100 \% = 44.55 \%$$

Infusa Pulasari 64 mg/kg BB

$$\text{Daya anti-anafilaksis (\%)} = \frac{72.9211 \text{ cm}^2.\text{jam} - 30.4079 \text{ cm}^2.\text{jam}}{72.9211 \text{ cm}^2.\text{jam}} \times 100 \% = 58.30 \%$$

### Lampiran 14. Statistik SPSS Data Orientasi dengan Metode Kolmogorov-Smirnov

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan	luasareapigmentasi0	luasareapigmentasi1	luasareapigmentasi2	luasareapigmentasi3	luasareapigmentasi4	luasareapigmentasi5	luasareapigmentasi6	luasareapigmentasi7	luasareapigmentasi8
N		28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	4.00	.000000	1.936729	3.616918	5.611093	7.526211	10.186429	9.683564	9.244704	8.669229
	Std. Deviation	2.037	.0000000 <sup>e</sup>	1.1616430	1.6486213	2.2814005	2.8148203	3.4232342	3.4860605	3.3204780	3.1147718
Most Extreme Differences	Absolute	.123		.164	.176	.142	.209	.196	.156	.200	.176
	Positive	.123		.161	.157	.112	.181	.105	.097	.124	.114
	Negative	-.123		-.164	-.176	-.142	-.209	-.196	-.156	-.200	-.176
Kolmogorov-Smirnov Z		.649		.865	.930	.752	1.105	1.036	.823	1.057	.932
Asymp. Sig. (2-tailed)		.793		.442	.352	.624	.174	.234	.507	.214	.350

a. Test distribution is Normal.

### Lampiran 15. Statistik SPSS Data Orientasi Luas Area Pigmentasi dengan Metode GLM

#### Multivariate Test

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
jam	Pillai's Trace	.999	2.157E3 <sup>a</sup>	7.000	15.000	.000
	Wilks' Lambda	.001	2.157E3 <sup>a</sup>	7.000	15.000	.000
	Hotelling's Trace	1.006E3	2.157E3 <sup>a</sup>	7.000	15.000	.000
	Roy's Largest Root	1.006E3	2.157E3 <sup>a</sup>	7.000	15.000	.000
jam * Perlakuan	Pillai's Trace	2.979	2.817	42.000	120.000	.000
	Wilks' Lambda	.000	7.746	42.000	73.808	.000
	Hotelling's Trace	131.013	41.592	42.000	80.000	.000
	Roy's Largest Root	125.404	3.583E2 <sup>b</sup>	7.000	20.000	.000

a. Exact statistic

b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

c. Design: Intercept + Perlakuan

Within Subjects Design: jam

#### Tests of Within-Subjects Effects

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
jam	Sphericity Assumed	2864.065	7	409.152	1.824E3	.000
	Greenhouse-Geisser	2864.065	4.027	711.171	1.824E3	.000
	Huynh-Feldt	2864.065	6.526	438.874	1.824E3	.000
	Lower-bound	2864.065	1.000	2864.065	1.824E3	.000
jam * Perlakuan	Sphericity Assumed	303.633	42	7.229	32.226	.000
	Greenhouse-Geisser	303.633	24.164	12.566	32.226	.000
	Huynh-Feldt	303.633	39.156	7.755	32.226	.000
	Lower-bound	303.633	6.000	50.605	32.226	.000
Error(jam)	Sphericity Assumed	32.977	147	.224		
	Greenhouse-Geisser	32.977	84.572	.390		
	Huynh-Feldt	32.977	137.045	.241		
	Lower-bound	32.977	21.000	1.570		



**Lampiran 16. Statistik SPSS Post-Hoc Scheffe Data Orientasi Luas Area  
Pigmentasi**

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	5.613978*	.1741064	.000	4.929931	6.298025
	3	-.260766	.1741064	.887	-.944813	.423282
	4	1.047000*	.1741064	.001	.362953	1.731047
	5	1.416353*	.1741064	.000	.732306	2.100400
	6	3.663500*	.1741064	.000	2.979453	4.347547
	7	4.765450*	.1741064	.000	4.081403	5.449497
2	1	-5.613978*	.1741064	.000	-6.298025	-4.929931
	3	-5.874744*	.1741064	.000	-6.558791	-5.190697
	4	-4.566978*	.1741064	.000	-5.251025	-3.882931
	5	-4.197625*	.1741064	.000	-4.881672	-3.513578
	6	-1.950478*	.1741064	.000	-2.634525	-1.266431
	7	-.848528*	.1741064	.008	-1.532575	-.164481
3	1	.260766	.1741064	.887	-.423282	.944813
	2	5.874744*	.1741064	.000	5.190697	6.558791
	4	1.307766*	.1741064	.000	.623718	1.991813
	5	1.677119*	.1741064	.000	.993072	2.361166
	6	3.924266*	.1741064	.000	3.240218	4.608313
	7	5.026216*	.1741064	.000	4.342168	5.710263
4	1	-1.047000*	.1741064	.001	-1.731047	-.362953
	2	4.566978*	.1741064	.000	3.882931	5.251025
	3	-1.307766*	.1741064	.000	-1.991813	-.623718
	5	.369353	.1741064	.616	-.314694	1.053400
	6	2.616500*	.1741064	.000	1.932453	3.300547
	7	3.718450*	.1741064	.000	3.034403	4.402497
5	1	-1.416353*	.1741064	.000	-2.100400	-.732306
	2	4.197625*	.1741064	.000	3.513578	4.881672
	3	-1.677119*	.1741064	.000	-2.361166	-.993072
	4	-.369353	.1741064	.616	-1.053400	.314694
	6	2.247147*	.1741064	.000	1.563100	2.931194
	7	3.349097*	.1741064	.000	2.665050	4.033144
6	1	-3.663500*	.1741064	.000	-4.347547	-2.979453
	2	1.950478*	.1741064	.000	1.266431	2.634525
	3	-3.924266*	.1741064	.000	-4.608313	-3.240218
	4	-2.616500*	.1741064	.000	-3.300547	-1.932453
	5	-2.247147*	.1741064	.000	-2.931194	-1.563100
	7	1.101950*	.1741064	.000	.417903	1.785997
7	1	-4.765450*	.1741064	.000	-5.449497	-4.081403
	2	.848528*	.1741064	.008	.164481	1.532575
	3	-5.026216*	.1741064	.000	-5.710263	-4.342168
	4	-3.718450*	.1741064	.000	-4.402497	-3.034403
	5	-3.349097*	.1741064	.000	-4.033144	-2.665050
	6	-1.101950*	.1741064	.000	-1.785997	-.417903

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .061.

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

**Keterangan Lampiran 16 :**

- 1 = Kontrol Negatif
- 2 = Kontrol Positif
- 3 = Infusa Kulit Batang Pulasari 4 mg/kg BB
- 4 = Infusa Kulit Batang Pulasari 8 mg/kg BB
- 5 = Infusa Kulit Batang Pulasari 16 mg/kg BB
- 6 = Infusa Kulit Batang Pulasari 32 mg/kg BB
- 7 = Infusa Kulit Batang Pulasari 64 mg/kg BB

**Lampiran 17. Perhitungan Konsentrasi Infusa Kulit Batang Pulasari**

LD<sub>50</sub> tikus infusa kulit batang pulasari, per oral = 79,459 mg/kg BB

- 1. 5 % LD<sub>50</sub> = 3,9730 mg/kg BB ≈ 4 mg/kg BB
- 2. 10 % LD<sub>50</sub> = 7,9459 mg/kg BB ≈ 8 mg/kg BB
- 3. 20 % LD<sub>50</sub> = 15,8918 mg/kg BB ≈ 16 mg/kg BB
- 4. 40 % LD<sub>50</sub> = 31,7836 mg/kg BB ≈ 32 mg/kg BB
- 5. 80 % LD<sub>50</sub> = 63,5672 mg/kg BB ≈ 64 mg/kg BB

**Konsentrasi Infusa Pulasari**

1. Dosis 1 (8 mg/kg BB)

$$\begin{aligned} C1 &= D.BB / V \\ &= 8 \text{ mg/kg} \cdot 200 \text{ g} / 5 \text{ ml} \\ &= 0,32 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

2. Dosis 2 (16 mg/kg BB)

$$\begin{aligned} C2 &= D.BB / V \\ &= 16 \text{ mg/kg} \cdot 200 \text{ g} / 5 \text{ ml} \\ &= 0,64 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

3. Dosis 3 (32 mg/kg BB)

$$\begin{aligned} C3 &= D.BB / V \\ &= 32 \text{ mg/kg} \cdot 200 \text{ g} / 5 \text{ ml} \\ &= 1,28 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

4. Dosis 4 (64 mg/kg BB)

$$\begin{aligned} C4 &= D.BB / V \\ &= 64 \text{ mg/kg} \cdot 200 \text{ g} / 5 \text{ ml} \\ &= 2,56 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

**Lampiran 18. Data Pengamatan Diameter Area Pigmentasi (D) (cm)****Kontrol Negatif**

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	2	2.7	3.2	3.7	4.2	4	3.8	3.8
2	0	1.9	2.6	3.2	3.7	4	4	3.9	3.9
3	0	1.9	2.7	3.3	3.8	4.1	4	3.9	3.8
4	0	2.1	2.7	3.2	3.7	4.3	4.2	4	3.9
Mean	0	1.975	2.675	3.225	3.725	4.15	4.05	3.875	3.85

**Kontrol Positif**

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	0.6	1.1	1.7	2.2	2.5	2.3	2.2	2.1
2	0	0.7	1.2	1.8	2.3	2.6	2.5	2.4	2.3
3	0	0.6	1.2	1.7	2.1	2.4	2.4	2.3	2.2
4	0	0.8	1.3	1.9	2.3	2.5	2.4	2.3	2.3
Mean	0	0.775	1.2	1.775	2.225	2.5	2.4	2.3	2.225

**Infusa Pulasari 8 mg/kg BB**

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	1.8	2.4	2.9	3.4	4	3.9	3.8	3.7
2	0	1.9	2.5	3.1	3.5	3.9	3.9	3.8	3.7
3	0	1.7	2.4	2.8	3.4	4	3.9	3.9	3.8
4	0	1.8	2.3	2.7	3.3	3.8	3.8	3.7	3.6
Mean	0	1.8	2.4	2.875	3.4	3.925	3.875	3.8	3.7

**Infusa Pulasari 16 mg/kg BB**

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	1.6	2.3	2.7	3.2	3.8	3.7	3.6	3.5
2	0	1.7	2.5	2.8	3.4	3.9	3.7	3.6	3.5
3	0	1.8	2.4	2.9	3.5	4	3.8	3.7	3.6
4	0	1.6	2.2	2.7	3.2	3.7	3.5	3.5	3.4
Mean	0	1.675	2.35	2.775	3.325	3.85	3.675	3.6	3.5

**Infusa Pulasari 32 mg/kg BB**

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	1.2	2	2.4	2.6	3.3	3.2	3.1	3
2	0	1.2	2	2.3	2.5	3.2	3.2	3	3
3	0	1.1	1.8	2.2	2.5	3.1	3.1	3	3
4	0	1.3	1.9	2.4	2.7	3.4	3.3	3.1	3
Mean	0	1.2	1.925	2.325	2.575	3.25	3.2	3.05	3

**Infusa Pulasari 64 mg/kg BB**

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	1	1.6	1.8	2.4	2.7	2.6	2.6	2.5
2	0	1.1	1.7	2	2.5	2.8	2.7	2.7	2.6
3	0	0.9	1.5	2.4	2.4	2.7	2.7	2.7	2.7
4	0	0.8	1.5	2.3	2.3	2.7	2.6	2.6	2.6
Mean	0	0.95	1.575	2.125	2.4	2.725	2.65	2.65	2.6

### Lampiran 19. Data Luas Area Pigmentasi (A) (cm<sup>2</sup>)

#### Kontrol Negatif

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	3.14	5.7227	8.0384	10.7467	13.8474	12.56	11.3354	11.3354
2	0	2.8339	5.3066	7.5439	10.7467	12.56	12.56	11.9399	11.9399
3	0	2.8339	5.7227	8.5487	11.3354	13.1959	12.56	11.9399	11.3354
4	0	3.4619	5.7227	8.0384	10.7467	14.5147	13.8474	12.56	11.9399
<b>Mean</b>	<b>0</b>	<b>3.0674</b>	<b>5.6187</b>	<b>8.0424</b>	<b>10.8939</b>	<b>13.5295</b>	<b>12.8819</b>	<b>11.9438</b>	<b>11.6377</b>

#### Kontrol Positif

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	0.2826	0.9499	2.2687	3.7994	4.9063	4.1527	3.7994	3.4619
2	0	0.3847	1.1304	2.5434	4.1527	5.3066	4.9063	4.5216	4.1527
3	0	0.2826	1.1304	2.2687	3.4619	4.5216	4.5216	4.1527	3.7994
4	0	0.5024	1.3267	2.8339	4.1527	4.9063	4.5216	4.1527	4.1527
<b>Mean</b>	<b>0</b>	<b>0.3631</b>	<b>0.8518</b>	<b>2.4787</b>	<b>3.8917</b>	<b>4.9102</b>	<b>4.3411</b>	<b>4.1566</b>	<b>3.8917</b>

#### Infusa Pulasari 8 mg/kg BB

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	2.5434	4.5216	5.7227	9.0746	12.56	11.9399	11.3354	10.7467
2	0	2.8339	4.9063	6.1544	9.6163	11.9399	11.9399	11.3354	10.7467
3	0	2.2687	4.5216	6.6019	9.0746	12.56	11.9399	11.9399	11.3354
4	0	2.5434	4.1527	5.7227	8.5487	11.3354	11.3354	11.3354	10.1736
<b>Mean</b>	<b>0</b>	<b>2.5474</b>	<b>4.5256</b>	<b>6.0504</b>	<b>9.0786</b>	<b>12.0988</b>	<b>11.7888</b>	<b>11.4865</b>	<b>10.7506</b>

#### Infusa Pulasari 16 mg/kg BB

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	2.0096	4.1527	5.7227	8.0384	11.3354	10.7467	10.1736	9.6163
2	0	2.2687	4.9063	6.1544	9.0746	11.9399	10.7467	10.1736	9.6163
3	0	2.5434	4.5216	6.6019	9.6163	12.56	11.3354	10.7467	10.1736
4	0	2.0096	3.7994	5.7227	8.0384	10.7467	9.6163	9.6163	9.0746
<b>Mean</b>	<b>0</b>	<b>2.2078</b>	<b>4.345</b>	<b>6.0504</b>	<b>8.6919</b>	<b>11.6455</b>	<b>10.6113</b>	<b>10.1776</b>	<b>9.6202</b>

#### Infusa Pulasari 32 mg/kg BB

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	1.1304	3.14	4.5216	5.3066	8.5487	8.0384	7.5439	7.065
2	0	1.1304	3.14	4.1527	4.9063	8.0384	8.0384	7.065	7.065
3	0	0.9499	2.5434	3.7994	4.9063	7.5439	7.5439	7.065	7.065
4	0	1.3267	2.8339	4.5216	5.7227	9.0746	8.5487	7.5439	7.065
<b>Mean</b>	<b>0</b>	<b>1.1344</b>	<b>2.9143</b>	<b>4.2488</b>	<b>5.2105</b>	<b>8.3014</b>	<b>8.0424</b>	<b>7.3045</b>	<b>7.065</b>

#### Infusa Pulasari 64 mg/kg BB

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Replikasi									
1	0	0.785	2.0096	2.5434	4.5216	5.7227	5.3066	5.3066	4.9063
2	0	0.9499	2.2687	3.14	4.9063	6.1544	5.7227	5.7227	5.3066
3	0	0.6359	1.7663	2.8339	4.5216	5.7227	5.7227	5.7227	5.7227
4	0	0.5024	1.7663	2.5434	4.1527	5.7227	5.3066	5.3066	5.3066
<b>Mean</b>	<b>0</b>	<b>0.7183</b>	<b>1.9527</b>	<b>2.6293</b>	<b>4.5256</b>	<b>5.8306</b>	<b>5.5147</b>	<b>5.5147</b>	<b>5.3106</b>

**Lampiran 20.** Data AUC<sub>0-8</sub> (cm<sup>2</sup>.jam)**Kontrol Negatif**

Replikasi	1	2	3	4
	71.0585 cm <sup>2</sup> .jam	69.4612 cm <sup>2</sup> .jam	71.8045 cm <sup>2</sup> .jam	75.262 cm <sup>2</sup> .jam
Rata-rata	71.8966 cm <sup>2</sup> .jam			

**Kontrol Positif**

Replikasi	1	2	3	4
	21.8902 cm <sup>2</sup> .jam	25.0224 cm <sup>2</sup> .jam	22.2394 cm <sup>2</sup> .jam	24.4728 cm <sup>2</sup> .jam
Rata-rata	23.4062 cm <sup>2</sup> .jam			

**Infusa Pulasari 8 mg/kg BB**

Replikasi	1	2	3	4
	63.9504 cm <sup>2</sup> .jam	65.4916 cm <sup>2</sup> .jam	64.126 cm <sup>2</sup> .jam	59.472 cm <sup>2</sup> .jam
Rata-rata	63.26 cm <sup>2</sup> .jam			

**Infusa Pulasari 16 mg/kg BB**

Replikasi	1	2	3	4
	56.9873 cm <sup>2</sup> .jam	60.0726 cm <sup>2</sup> .jam	63.0123 cm <sup>2</sup> .jam	54.1069 cm <sup>2</sup> .jam
Rata-rata	58.5448 cm <sup>2</sup> .jam			

**Infusa Pulasari 32 mg/kg BB**

Replikasi	1	2	3	4
	40.7623 cm <sup>2</sup> .jam	40.0038 cm <sup>2</sup> .jam	37.8844 cm <sup>2</sup> .jam	43.1049 cm <sup>2</sup> .jam
Rata-rata	40.4389 cm <sup>2</sup> .jam			

**Infusa Pulasari 64 mg/kg BB**

Replikasi	1	2	3	4
	28.6488 cm <sup>2</sup> .jam	31.5183 cm <sup>2</sup> .jam	29.7873 cm <sup>2</sup> .jam	27.9542 cm <sup>2</sup> .jam
Rata-rata	29.4772 cm <sup>2</sup> .jam			

**Lampiran 21. Data Perhitungan Persen Daya Anti-anafilaksis****Kontrol Positif**

$$\text{Daya anti anafilaksis (\%)} = \frac{71.8966 \text{ cm}^2/\text{jam} - 23.4062 \text{ cm}^2/\text{jam}}{71.8966 \text{ cm}^2/\text{jam}} \times 100 \% = 67.4446 \%$$

**Infusa Pulasari 8 mg/kg BB**

$$\text{Daya anti anafilaksis (\%)} = \frac{71.8966 \text{ cm}^2/\text{jam} - 63.26 \text{ cm}^2/\text{jam}}{71.8966 \text{ cm}^2/\text{jam}} \times 100 \% = 12.0125 \%$$

**Infusa Pulasari 16 mg/kg BB**

$$\text{Daya anti anafilaksis (\%)} = \frac{71.8966 \text{ cm}^2/\text{jam} - 58.5448 \text{ cm}^2/\text{jam}}{71.8966 \text{ cm}^2/\text{jam}} \times 100 \% = 18.5708 \%$$

**Infusa Pulasari 32 mg/kg BB**

$$\text{Daya anti anafilaksis (\%)} = \frac{71.8966 \text{ cm}^2/\text{jam} - 40.4389 \text{ cm}^2/\text{jam}}{71.8966 \text{ cm}^2/\text{jam}} \times 100 \% = 43.7541 \%$$

**Infusa Pulasari 64 mg/kg BB**

$$\text{Daya anti anafilaksis (\%)} = \frac{71.8966 \text{ cm}^2/\text{jam} - 29.4772 \text{ cm}^2/\text{jam}}{71.8966 \text{ cm}^2/\text{jam}} \times 100 \% = 59.0006 \%$$

**Lampiran 22. Statistik SPSS Data Diameter Area Pigmentasi  
(Kolmogorov-Smirnov, GLM, Scheffe)****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

	perlakuan	diameter0	diameter1	diameter2	diameter3	diameter4	diameter5	diameter6	diameter7	diameter8
N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
Normal Parameters:										
Mean	3.50	.0000	1.3792	2.0208	2.5167	2.9417	3.4000	3.3083	3.2167	3.1458
Std. Deviation	1.745	.00000 <sup>c</sup>	.48899	.52749	.51724	.58303	.64336	.63377	.61409	.60719
Most Extreme Differences										
Absolute	.138		.174	.160	.138	.192	.191	.190	.192	.178
Positive	.138		.101	.099	.092	.192	.158	.165	.133	.107
Negative	-.138		-.174	-.160	-.138	-.171	-.191	-.190	-.192	-.178
Kolmogorov-Smirnov Z	.678		.854	.784	.678	.942	.937	.931	.941	.874
Asymp. Sig. (2-tailed)	.748		.460	.571	.747	.337	.344	.351	.339	.429

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

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

## Multivariate Test

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
jam	Pillai's Trace	1.000	4.769E3 <sup>a</sup>	7.000	12.000	.000
	Wilks' Lambda	.000	4.769E3 <sup>a</sup>	7.000	12.000	.000
	Hotelling's Trace	2.782E3	4.769E3 <sup>a</sup>	7.000	12.000	.000
	Roy's Largest Root	2.782E3	4.769E3 <sup>a</sup>	7.000	12.000	.000
jam * Perlakuan	Pillai's Trace	3.430	4.994	35.000	80.000	.000
	Wilks' Lambda	.000	11.254	35.000	52.909	.000
	Hotelling's Trace	107.376	31.906	35.000	52.000	.000
	Roy's Largest Root	97.195	2.222E2 <sup>b</sup>	7.000	16.000	.000

a. Exact statistic

b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

c. Design: Intercept + Perlakuan

Within Subjects Design: jam

## Tests of Within-Subjects Effects

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
jam	Sphericity Assumed	233.357	7	33.337	5.854E3	.000
	Greenhouse-Geisser	233.357	3.492	66.825	5.854E3	.000
	Huynh-Feldt	233.357	5.639	41.383	5.854E3	.000
	Lower-bound	233.357	1.000	233.357	5.854E3	.000
jam * Perlakuan	Sphericity Assumed	7.456	35	.213	37.409	.000
	Greenhouse-Geisser	7.456	17.460	.427	37.409	.000
	Huynh-Feldt	7.456	28.195	.264	37.409	.000
	Lower-bound	7.456	5.000	1.491	37.409	.000
Error(jam)	Sphericity Assumed	.717	126	.006		
	Greenhouse-Geisser	.717	62.857	.011		
	Huynh-Feldt	.717	101.501	.007		
	Lower-bound	.717	18.000	.040		

Scheffe

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	1.328 <sup>*</sup>	.0465	.000	1.155	1.501
	3	.203 <sup>*</sup>	.0465	.016	.030	.376
	4	.306 <sup>*</sup>	.0465	.000	.133	.479
	5	.772 <sup>*</sup>	.0465	.000	.599	.945
	6	1.078 <sup>*</sup>	.0465	.000	.905	1.251
2	1	-1.328 <sup>*</sup>	.0465	.000	-1.501	-1.155
	3	-1.125 <sup>*</sup>	.0465	.000	-1.298	-.952
	4	-1.022 <sup>*</sup>	.0465	.000	-1.195	-.849
	5	-.556 <sup>*</sup>	.0465	.000	-.729	-.383
	6	-.250 <sup>*</sup>	.0465	.002	-.423	-.077
3	1	-.203 <sup>*</sup>	.0465	.016	-.376	-.030
	2	1.125 <sup>*</sup>	.0465	.000	.952	1.298
	4	.103	.0465	.454	-.070	.276
	5	.569 <sup>*</sup>	.0465	.000	.396	.742
	6	.875 <sup>*</sup>	.0465	.000	.702	1.048
4	1	-.306 <sup>*</sup>	.0465	.000	-.479	-.133
	2	1.022 <sup>*</sup>	.0465	.000	.849	1.195
	3	-.103	.0465	.454	-.276	.070
	5	.466 <sup>*</sup>	.0465	.000	.293	.639
	6	.772 <sup>*</sup>	.0465	.000	.599	.945
5	1	-.772 <sup>*</sup>	.0465	.000	-.945	-.599
	2	.556 <sup>*</sup>	.0465	.000	.383	.729
	3	-.569 <sup>*</sup>	.0465	.000	-.742	-.396
	4	-.466 <sup>*</sup>	.0465	.000	-.639	-.293
	6	.306 <sup>*</sup>	.0465	.000	.133	.479
6	1	-1.078 <sup>*</sup>	.0465	.000	-1.251	-.905
	2	.250 <sup>*</sup>	.0465	.002	.077	.423
	3	-.875 <sup>*</sup>	.0465	.000	-1.048	-.702
	4	-.772 <sup>*</sup>	.0465	.000	-.945	-.599
	5	-.306 <sup>*</sup>	.0465	.000	-.479	-.133

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .004.

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

Keterangan :

Perlakuan 1 = Kontrol Negatif

Perlakuan 2 = Kontrol Positif

Perlakuan 3 = Infusa Pulasari 8 mg/kg BB

Perlakuan 4 = Infusa Pulasari 16 mg/kg BB

Perlakuan 5 = Infusa Pulasari 32 mg/kg BB

Perlakuan 6 = Infusa Pulasari 64 mg/kg BB



### Lampiran 23. Statistik SPSS Data Luas Area Pigmentasi (Kolmogorov-Smirnov, GLM, Scheffe)

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	perlakuan	luasareapi gmentasi0	luasareapi gmentasi1	luasareapi gmentasi2	luasareapi gmentasi3	luasareapi gmentasi4	luasareapi gmentasi5	luasareapi gmentasi6	luasareapi gmentasi7	luasareapi gmentasi8	
N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	3.50	.000000	1.673054	3.415104	4.939313	7.048675	9.386008	8.894075	8.430596	8.045946
	Std. Deviation	1.745	.000000	1.031878	1.611953	2.041014	2.710905	3.366497	3.215936	3.046100	2.918402
Most Extreme Differences	Absolute	.138		.159	.135	.149	.202	.177	.176	.175	.163
	Positive	.138		.159	.100	.144	.202	.165	.171	.146	.132
	Negative	-.138		-.135	-.135	-.149	-.148	-.177	-.176	-.175	-.163
Kolmogorov-Smirnov Z	.678		.778	.660	.732	.990	.867	.862	.856	.799	
Asymp. Sig. (2-tailed)	.748		.580	.776	.657	.281	.439	.447	.456	.546	

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. The distribution has no variance for this variable.

#### Multivariate Tests<sup>c</sup>

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
jam	Pillai's Trace	.999	1.558E3 <sup>a</sup>	7.000	12.000	.000
	Wilks' Lambda	.001	1.558E3 <sup>a</sup>	7.000	12.000	.000
	Hotelling's Trace	908.649	1.558E3 <sup>a</sup>	7.000	12.000	.000
	Roy's Largest Root	908.649	1.558E3 <sup>a</sup>	7.000	12.000	.000
jam * Perlakuan	Pillai's Trace	3.453	5.103	35.000	80.000	.000
	Wilks' Lambda	.000	13.478	35.000	52.909	.000
	Hotelling's Trace	138.028	41.014	35.000	52.000	.000
	Roy's Largest Root	124.111	2.837E2 <sup>b</sup>	7.000	16.000	.000

a. Exact statistic

b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

c. Design: Intercept + Perlakuan

Within Subjects Design: jam

#### Tests of Within-Subjects Effects

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
jam	Sphericity Assumed	2091.806	7	298.829	3.754E3	.000
	Greenhouse-Geisser	2091.806	3.576	584.922	3.754E3	.000
	Huynh-Feldt	2091.806	5.812	359.920	3.754E3	.000
	Lower-bound	2091.806	1.000	2091.806	3.754E3	.000
jam * Perlakuan	Sphericity Assumed	233.542	35	6.673	83.826	.000
	Greenhouse-Geisser	233.542	17.881	13.061	83.826	.000
	Huynh-Feldt	233.542	29.059	8.037	83.826	.000
	Lower-bound	233.542	5.000	46.708	83.826	.000
Error(jam)	Sphericity Assumed	10.030	126	.080		
	Greenhouse-Geisser	10.030	64.372	.156		
	Huynh-Feldt	10.030	104.614	.096		
	Lower-bound	10.030	18.000	.557		

Scheffe

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	5.564669*	.2009175	.000	4.816557	6.312780
	3	1.050184*	.2009175	.003	.302073	1.798296
	4	1.530997*	.2009175	.000	.782885	2.279108
	5	3.602662*	.2009175	.000	2.854551	4.350774
	6	4.894475*	.2009175	.000	4.146364	5.642586
2	1	-5.564669*	.2009175	.000	-6.312780	-4.816557
	3	-4.514484*	.2009175	.000	-5.262596	-3.766373
	4	-4.033672*	.2009175	.000	-4.781783	-3.285560
	5	-1.962006*	.2009175	.000	-2.710118	-1.213895
	6	-.670194	.2009175	.096	-1.418305	.077918
3	1	-1.050184*	.2009175	.003	-1.798296	-.302073
	2	4.514484*	.2009175	.000	3.766373	5.262596
	4	.480812	.2009175	.373	-.267299	1.228924
	5	2.552478*	.2009175	.000	1.804367	3.300590
	6	3.844291*	.2009175	.000	3.096179	4.592402
4	1	-1.530997*	.2009175	.000	-2.279108	-.782885
	2	4.033672*	.2009175	.000	3.285560	4.781783
	3	-.480812	.2009175	.373	-1.228924	.267299
	5	2.071666*	.2009175	.000	1.323554	2.819777
	6	3.363478*	.2009175	.000	2.615367	4.111590
5	1	-3.602662*	.2009175	.000	-4.350774	-2.854551
	2	1.962006*	.2009175	.000	1.213895	2.710118
	3	-2.552478*	.2009175	.000	-3.300590	-1.804367
	4	-2.071666*	.2009175	.000	-2.819777	-1.323554
	6	1.291812*	.2009175	.000	.543701	2.039924
6	1	-4.894475*	.2009175	.000	-5.642586	-4.146364
	2	.670194	.2009175	.096	-.077918	1.418305
	3	-3.844291*	.2009175	.000	-4.592402	-3.096179
	4	-3.363478*	.2009175	.000	-4.111590	-2.615367
	5	-1.291812*	.2009175	.000	-2.039924	-.543701

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .081.

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

Keterangan :

Perlakuan 1 = Kontrol Negatif

Perlakuan 2 = Kontrol Positif

Perlakuan 3 = Infusa Pulasari 8 mg/kg BB

Perlakuan 4 = Infusa Pulasari 16 mg/kg BB

Perlakuan 5 = Infusa Pulasari 32 mg/kg BB

Perlakuan 6 = Infusa Pulasari 64 mg/kg BB

**Lampiran 24.** Perhitungan ED<sub>50</sub> infusa kulit batang pulasari

Persamaan regresi linier dosis (mg/kg BB) terhadap daya anti-anafilaksis (%)

infusa kulit batang pulasari :  $y = 0.85 x + 7.75$ .

ED<sub>50</sub>, berarti  $y = 50\%$ , maka :

$$50 = 0.85 x + 7.75$$

$$42.25 = 0.85 x$$

$$x = 49.71 \text{ mg/kg BB}$$

Jadi, ED<sub>50</sub> infusa kulit batang pulasari sebesar 49.71 mg/kg BB.

Lampiran 25. Surat Determinasi Pulasari

**SURAT KETERANGAN DETERMINASI**

Nama : *Alyxia reinwardtii* Bl.  
Suku : Apocynaceae

Hasil determinasi menurut C.A. Backer (1968):

1b\_2b\_3b\_4b\_12b\_13b\_14b\_17b\_18b\_19b\_20b\_21b\_22b\_23b\_24b\_25b\_26b\_27a\_28  
b\_29b\_30b\_31b\_403b\_404b\_405b\_414b\_415b\_451a\_452b\_453a\_454a\_455b\_456b\_45  
7b\_458b\_459b \_\_\_\_\_ **160. Apocynaceae**

1b\_3b \_\_\_\_\_ *Alyxia*

1b\_3b\_6a\_7b\_16a\_17b\_19a\_20b \_\_\_\_\_ *Alyxia reinwardtii* Bl.

Diskripsi tanaman;

Habitus; Semak, merambat, panjang  $\pm$  10 m. Batang; Berkayu, bulat, bercabang, hijau. Daun; Tunggal, lonjong, pangkal dan ujung meruncing, tepi rata, panjang 3-10 cm, lebar 1-3,5 cm, pertulangan menyirip, tangkai tebal, panjang 5-10 mm, putih kehijauan. Bunga; Majemuk, bentuk malai, diketiak daun, tiga sampai enam, sendiri atau berpasangan, kelopak bulat telur, mahkota bentuk corong putih. Buah; Kecil, bulat telur, runcing, hijau. Akar; Tunggang, putih.

Tawangmangu, September 2009  
Penanggung jawab  
Inst. Sistematika Tumbuhan Obat



Supriyati  
Nip. 196009151988032001

## Lampiran 26. Surat Keterangan Pembelian Hewan Uji



# FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS SANATA DHARMA

(KAMPUS III) Paingan, Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta 55282  
Telp.(0274)883037,883968 Fax.(0274)886529 - Telegram: SADHAR YOGYA  
E-mail: farmasi@staff.usd.ac.id; Website: www.farmasi.usd.ac.id

### Surat Keterangan

Lab-Far/ 002 / VIII /2009 / BHP

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Yohanes Dwiatmaka, M.Si.

Jabatan : Kepala Laboratorium Fakultas Farmasi Univesitas Sanata Dharma

Menyatakan bahwa :

Nama : Josephine Susanto

NIM : 06 8114 097

Telah melakukan pembelian hewan uji dari Laboratorium Farmasi Universitas Sanata Dharma, berupa :

Nama Hewan uji	Jenis / Galur	Umur	Jumlah
Tikus Jantan	WISTAR	2 Bulan	30

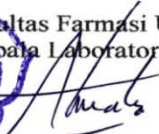
Sesuai dengan surat permohonannya ( f.c. terlampir )

Yang akan digunakan untuk keperluan penelitian skripsi di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta , 11 Agustus 2009

Fakultas Farmasi USD  
Kepala Laboratorium



Yohanes Dwiatmaka, M.Si.

## BIOGRAFI PENULIS



Penulis skripsi berjudul "Efek Infusa Kulit Batang Pulasari (*Alyxia reinwardtii* Bl.) terhadap Reaksi Anafilaksis Kutaneus Aktif yang Diinduksi Ovalbumin pada Tikus Wistar Jantan" memiliki nama lengkap Josephine Susanto, merupakan anak kedua dari tiga bersaudara pasangan Yohanes Ho Susanto dan Sri Hartati yang dilahirkan di Sleman, Yogyakarta, pada tanggal 12 Februari 1988. Riwayat pendidikan formal yang telah ditempuh penulis antara lain : TK Tarakanita Bumijo Yogyakarta (1992 – 1993), SD Tarakanita Bumijo Yogyakarta (1994 – 2000), SLTP Stella Duce I Yogyakarta (2001 – 2003), SMU Stella Duce I Yogyakarta (2004 – 2006), Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta (2006 – 2009). Selama kuliah, penulis terlibat dalam Program Kreativitas Mahasiswa Teknologi tahun 2009 dengan judul "Pengaruh Pola Makan terhadap Penyakit Gastritis pada Mahasiswa Farmasi Angkatan 2006 Universitas Sanata Dharma, Paingan, Maguwoharjo, Yogyakarta".