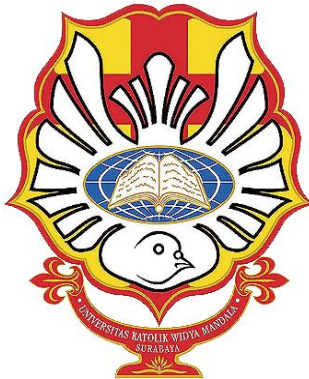


**EFEK KOMBINASI FRAKSI AIR DAUN SALAM DAN
HERBA SAMBILOTO TERHADAP JUMLAH MAKROFAG
DAN KADAR TNF- α (*TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA*)
PADA TIKUS WISTAR JANTAN**



**REGINA SELVIANA WIJAYA
2443010201**

**PROGRAM STUDI S1
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA**

2015

**EFEK KOMBINASI FRAKSI AIR DAUN SALAM DAN
HERBA SAMBILOTO TERHADAP JUMLAH MAKROFAG
DAN KADAR TNF- α (*TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA*)
PADA TIKUS WISTAR JANTAN**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala
Surabaya

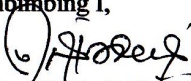
OLEH:

REGINA SELVIANA WIJAYA

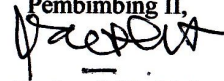
2443010201

Telah disetujui pada tanggal 10 April 2015 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,


Wahyu D. T., S.Si., M.Sc., Apt
NIK. 241.04.0574

Pembimbing II,


Martha Ervina, S.Si., M.Sc., Apt
NIK. 241.98.0351

Mengetahui,
Ketua Penguji


Dr. drh. Iwan Syahrial, M.Si.
NIK. 196807131993031009

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/ karya ilmiah saya, dengan judul : **EFEK KOMBINASI FRAKSI AIR DAUN SALAM DAN HERBA SAMBILOTO TERHADAP JUMLAH MAKROFAG DAN KADAR TNF- α (TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA) PADA TIKUS WISTAR JANTAN** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain, yaitu Digital Library Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 28 Mei 2015



Regina Selviana Wijaya
2443010201

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini
adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini
merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia
menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan
dan atau pencabutan gelar yang saya
peroleh

Surabaya, 28 Mei 2015



Regina Selviana Wijaya
2443010201

ABSTRAK

EFEK KOMBINASI FRAKSI AIR DAUN SALAM DAN HERBA SAMBILOTO TERHADAP JUMLAH MAKROFAG DAN KADAR TNF- α PADA TIKUS WISTAR JANTAN

Regina Selviana Wijaya
2443010201

Inflamasi merupakan respon fisiologis terhadap berbagai rangsangan. Proses inflamasi diperlukan sebagai pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme yang masuk, serta meningkatkan perbaikan jaringan. TNF alpha merupakan sitokin utama pada proses inflamasi akut. TNF alpha dilepaskan oleh makrofag untuk bereaksi dengan berbagai rangsangan mikroorganisme termasuk *Staphylococcus aureus*. Daun salam dan herba sambiloto merupakan salah satu tanaman obat yang memiliki khasiat sebagai antiinflamasi. Pada penelitian ini digunakan kombinasi fraksi air daun salam dan herba sambiloto dengan perbandingan (1:6), (1:2), (2:1), dan (6:1) serta ibuprofen sebagai kontrol positif. Tikus yang digunakan adalah tikus Wistar jantan sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok uji terdiri dari kontrol negatif, kelompok perlakuan (1:6), (1:2), (2:1), (6:1) dan kontrol positif. Tikus diinjeksi bakteri *Staphylococcus aureus* dan dibedah kemudian diambil cairan peritonealnya. Sebagian langsung dilakukan pengamatan jumlah makrofag menggunakan larutan Giemsa dan diamati menggunakan mikroskop (perbesaran 400x). Sebagian lagi ditambah EDTA kemudian disentrifus untuk pemeriksaan kadar TNF alpha menggunakan *ELISA reader*. Data yang didapat dianalisis menggunakan uji analisis non-parametrik Kruskal wallis dengan tingkat kepercayaan 0,05. Hasil penelitian menunjukkan terjadi peningkatan jumlah makrofag dan penurunan kadar TNF alpha pada kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kontrol, sehingga dapat disimpulkan tidak ada perbedaan rata-rata dari kontrol dan kelompok perlakuan.

Kata Kunci: Daun Salam, ELISA, Herba Sambiloto, Inflamasi, Makrofag, TNF- α ,

ABSTRACT

THE EFFECT OF WATER FRACTION COMBINATION OF SALAM LEAVES AND SAMBILOTO HERBS ON THE NUMBER OF MACROPHAGES AND TNF- α LEVELS IN WISTAR RAT

**Regina Selviana Wijaya
2443010201**

Inflammation is a physiological body response to various stimuli. The process of inflammation is necessary as a defense against microorganisms that enter the body, and increase tissue repair. TNF alpha is a major cytokine in acute inflammatory process. TNF alpha is released by macrophages to react with a variety of microorganisms including *Staphylococcus aureus* stimulation. Salam leaves and sambiloto herbs are herbs that have anti-inflammatory properties. In this study a mixture of water fraction of salam leaves and sambiloto herbs in the ratio (1: 6), (1: 2), (2: 1), and (6: 1) were used, ibuprofen used as a positive control. Male Wistar rats were used as many as 30 individuals that were divided into 6 groups of tests consisting of a negative control, the treatment groups of (1: 6), (1: 2), (2: 1), (6: 1) and a positive control group. Rats were injected with *Staphylococcus aureus*, dissected, and peritoneal fluid were collected. The number of macrophages was observed using a microscope (magnification 400x). The part of the whole blood was mixed with EDTA, and used to examine the TNF alpha levels using ELISA reader. The data obtained were analyzed using non-parametric analysis test Kruskal Wallis ($P < 0.05$). The results showed increased in the number of macrophages and reduced levels of TNF alpha in the treatment group compared with the control

Key words: ELISA, Inflammation, Macrophag, Salam leave, Sambiloto herb, TNF- α ,

KATA PENGANTAR

Puji Syukur dipanjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan anugerah-Nya, sehingga penelitian dan penulisan skripsi dengan judul ***“Efek Kombinasi Fraksi Air Daun Salam dan Herba Sambiloto terhadap Jumlah Makrofag dan Kadar TNF- α (Tumor Necrosis Factor Alpha) pada Tikus Wistar Jantan”*** dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Skripsi ini dapat terselesaikan tidak lepas dari bantuan, bimbingan, serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini, dengan segala ketulusan dan kerendahan hati, disampaikan terimakasih sebesar-besarnya kepada :

1. Drs. Kuncoro Foe, Ph.D., Apt selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, atas kesempatan yang diberikan sehingga dapat menimba ilmu dan belajar di Universitas ini.
2. Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt selaku Dekan, Dr. Lannie Hadisoewignyo, Apt selaku Wakil Dekan I dan Caroline, M.Si., Apt selaku Wakil Dekan II Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
3. Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt selaku Ketua Program Studi Strata 1 Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
4. Wahyu Dewi Tamayanti, M.Sc., Apt, selaku Pembimbing I dan Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt selaku Pembimbing II, yang telah menyediakan waktu dan tenaga, serta memberikan pengarahan, sumbangan pemikiran, dan dorongan semangat yang sangat berharga dari awal penelitian hingga selesainya penyusunan skripsi ini.

5. Dr. Iwan Sahrial, drh, M.Si dan Dra. Hj. Liliek Hermanu, MS., Apt, selaku tim penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang sangat berharga guna penyempurnaan skripsi ini.
6. Wahyu Dewi Tamayanti., M.Sc.,Apt selaku Kepala Laboratorium Kimia Klinik dan Biokimia Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, dan Angelica Kresnamurti M.Farm., Apt selaku Kepala Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala, yang telah memberikan bantuan dalam hal peminjaman peralatan dan tempat untuk melaksanakan penelitian ini.
7. Senny Y. E., M.Si., Apt selaku penasihat akademik yang telah mendampingi, memberikan arahan dan dukungan baik dalam kegiatan perkuliahan maupun penyusunan skripsi ini.
8. Seluruh staf tata usaha dan laboran Fakultas Farmasi yang telah banyak membantu dalam segala hal hingga terselesaikannya naskah skripsi ini.
9. Kedua orang tua tercinta: Alm. Yohanes Hendro Wijaya dan Ibu Imelda Wijaya serta kakak dan adik tercinta: Ce Yuli, Ce Dewi, dan Christian untuk seluruh cinta, kesabaran, pengorbanan, kasih sayang, semangat, motivasi, dukungan moril maupun materil dan doa yang senantiasa mengiringi mulai dari kegiatan perkuliahan sampai penulisan skripsi ini.
10. Teman-teman semua, khususnya Cynthia, Tabytha, Mentari, Umi, Tirza, Rizka, dan Putri yang telah memberikan saran dan dorongan selama proses penulisan skripsi serta berbagi senyum dan semangat hingga terselesaikannya skripsi ini dengan baik.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang kefarmasian.

Surabaya, 10 April 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR LAMPIRAN	iii
DAFTAR TABEL.....	
DAFTAR GAMBAR	
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Hipotesis Penelitian	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Herba Sambiloto	8
2.2 Daun Salam	10
2.3 Ekstraksi	13
2.4 Ekstrak	15
2.5 Fraksinasi	16
2.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	17
2.7 Sistem Imun.....	19
2.8 <i>Staplylococcus aureus</i>	24
2.9 Tikus Putih	25
2.10 ELISA (<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>)	26

	Halaman
2.11 Ibuprofen	28
2.12 Analisa Statistik	29
BAB 3 METODE PENELITIAN	30
3.1 Alat Penelitian	30
3.2 Bahan Penelitian	30
3.3 Hewan Percobaan	31
3.4 Rancangan Penelitian	31
3.5 Variabel Penelitian	32
3.6 Standarisasi Simplisia	33
3.7 Standarisasi Ekstrak	34
3.8 Fraksinasi	35
3.9 Skrining Fitokimia	36
3.10 Skrining Fitokimia KLT	37
3.11 Penentuan Dosis	38
3.12 Pembuatan Sediaan Uji	38
3.13 Pemberian Fraksi	39
3.14 Skema Kerja	41
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	46
4.1 Hasil Pengamatan	46
4.2 Pembahasan	55
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	61
5.1 Kesimpulan	61
5.2 Saran	61
DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN	67

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Hasil Perhitungan Jumlah Makrofag	67
B. Data Hasil Perhitungan Kadar TNF- α	68
C. Regresi Linear Standar TNF-ALPHA	69
D. Hasil Uji SPSS TNF-ALPHA	70
E. Hasil Uji SPSS Makrofag	72
F. Cara Perhitungan Rendemen.....	74
G. Pemeriksaan Kadar Sitokin (TNF- α) pada Plasma Darah.....	75
H. Surat Determinasi Tanaman Salam	78
I. Surat Determinasi Tanaman Sambiloto	79
J. Sertifikat Hewan Uji.....	80
K. Surat Perijinan Kode Etik Hewan.....	81
L. Tabel Distribusi Chi-Square.....	82

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Dosis untuk fraksi air yang akan diberikan pada tikus.....	38
3.2 Dosis untuk obat ibuprofen yang akan diberikan pada tikus.	38
4.1 Hasil Standarisasi Simplisia Daun Salam	47
4.2 Hasil Standarisasi Simplisia Herba Sambiloto	47
4.3 Hasil Uji Standarisasi Ekstrak.....	48
4.4 Hasil Skrining Fitokimia.....	49
4.5 Hasil Ekstraksi Herba Sambiloto dan daun Salam	49
4.6 Hasil Fraksinasi Ekstrak Herba Sambiloto dan Daun Salam.	49
4.7 Harga Rf daun salam dan herba sambiloto pada pengamatan dengan sinar UV λ 254 nm.....	51
4.8 Harga Rf daun salam dan herba sambiloto pada pengamatan dengan sinar UV λ 366 nm.....	51
4.9 Harga Rf daun salam dan herba sambiloto pada pengamatan dengan sinar tampak setelah direaksikan dengan uap amoniak	52
4.10 Hasil Perhitungan konsentrasi sebenarnya dari TNF- α pada berbagai kombinasi salam : sambiloto.....	52
4.11 Hasil perhitungan rata-rata $\pm$ SD jumlah makrofag dari masing-masing kelompok perlakuan	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Herba Sambiloto.....	8
2.2 Tanaman Salam.....	11
2.3 Profil KLT ekstrak dan fraksi herba sambiloto dan daun salam.....	18
2.4 Makrofag	21
2.5 Sel makrofag kelompok kontrol pada mikroskop cahaya (perbesaran 1000x).....	22
2.6 <i>Sandwich</i> ELISA.....	28
4.1. Profil KLT Ekstrak dan Fraksi Herba Sambiloto dan Daun salam.....	50
4.3. Makrofag pada kelompok perlakuan	53