



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria papuana*) DOSIS
BERTINGKAT TERHADAP
PROLIFERASI LIMFOSIT LIEN
PADA MENCIT *BALB/C***

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH
Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Oleh :
M. Saifulhaq M.
G2A002109

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2006

HALAMAN PENGESAHAN

Telah disetujui oleh dosen pembimbing, artikel Karya Tulis Ilmiah dari :

Nama : M. Saifulhaq M.
NIM : G2A002109
Tingkat : Program Pendidikan Sarjana
Fakultas : Kedokteran Umum
Universitas : Diponegoro
Bagian : Histologi
Judul : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH MAHKOTA DEWA DOSIS BERTINGKAT TERHADAP PROLIFERASI LIMFOSIT LIEN PADA MENCIT *BALB/C*
Dosen Pembimbing : dr. Ratna Damma Purnawati, M.Kes

Semarang, Juli 2006

Dosen pembimbing

dr. Ratna Damma Purnawati, M.Kes

NIP : 131 916 037

Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria papuana*) Dosis Bertingkat terhadap Proliferasi Limfosit Lien pada Mencit *BALB/C*

M. Saifulhaq M.* Ratna Damma Purnawati**

ABSTRAK

Latar Belakang : Mahkota dewa diketahui mengandung berbagai senyawa, antara lain *flavanoid*. *Flavanoid* terbukti dapat meningkatkan produksi IL-2 sehingga menyebabkan peningkatan proliferasi limfosit. Lien merupakan organ limfoid terbesar yang berfungsi menghasilkan limfosit. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh ekstrak buah mahkota dewa terhadap peningkatan proliferasi limfosit lien mencit *BALB/C*.

Metoda : Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan rancangan *the post test only control group design* pada 25 ekor mencit *BALB/C* jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok. K merupakan kelompok kontrol,

sedangkan kelompok perlakuan yaitu P1 yang diberi ekstrak mahkota dewa 35 µg/hari, P2 diberi 70 µg/hari, P3 diberi 140 µg/hari, dan P4 diberi 280 µg/hari. Perlakuan dilaksanakan selama 2 minggu, dilanjutkan dengan isolasi limfosit lien dan penghitungan jumlah limfoblas pada 200 sel.

Hasil : Terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok K dengan P1 ($p=0,009$) dan P2 ($p=0,028$); P1 dengan P2 ($p=0,009$), P3 ($p=0,009$), dan P4 ($p=0,009$); P2 dengan P3 ($p=0,012$), dan P4 ($p=0,028$). Hal ini disebabkan adanya *flavanoid*.

Didapatkan perbedaan jumlah limfoblas yang tidak bermakna antara kelompok K dengan P3 ($p=0,917$) dan P4 ($p=0,675$); serta P3 dengan P4 ($p=0,917$). Hal ini disebabkan adanya efek sitotoksik dan immunosupresan dari *flavanoid* pada dosis tinggi.

Kesimpulan : Pada pemberian ekstrak mahkota dewa didapatkan peningkatan proliferasi limfosit lien yang bermakna pada kelompok P1 dan P2, dengan hasil tertinggi pada kelompok P1 yang diberi 35 µg ekstrak/hari. Semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan akan didapatkan peningkatan proliferasi yang semakin rendah.

Kata kunci : Proliferasi limfosit, mahkota dewa, *flavanoid*

* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

** Staf Pengajar Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

The Effect of Mahkota Dewa (Phaleria papuana) Fruits Extract Given on Gradual Doses in Spleen Lymphocytes Proliferation of BALB/C Mice

M. Saifulhaq M.* Ratna Damma Purnawati**

ABSTRACT

Background : Mahkota dewa contains chemical substances like flavanoid. Study had proven that flavanoid can increase IL-2 production that induces lymphocytes proliferation. Spleen is the largest lymphoid organ that produces lymphocytes. The aim of this study is to prove the effect of mahkota dewa extract on the increasing of spleen lymphocytes proliferation of BALB/C mice.

Method : An experimental study with the post-test only control group design was carried out on 25 male BALB/C mice, which was divided into 5 groups. K was control group, whereas the treated groups were P1 which was given mahkota dewa extract 35 µg/day, P2 given 70 µg/day, P3 given 140 µg/day, and P4 given 280 µg/day. Lymphocytes from the spleen of all mice were isolated after 2 weeks treatment, then lymphoblasts were counted in every 200 cells.

Results : There were significant differences in lymphoblasts count between K and P1 ($p=0,009$ and P2 ($p=0,028$); P1 and P2 ($p=0,009$), P3 ($p=0,009$), and P4 ($p=0,009$); P2 and P3 ($p=0,012$) and P4 ($p=0,028$). It may be caused by flavanoid.

There were no significant differences in lymphoblasts count between K and P3 ($p=0,917$), K and P4 ($p=0,675$), P3 and P4 ($p=0,917$). It may be caused by the other effects of flavanoid that are cytotoxic and immunosuppressive, especially on high dose.

Conclusion: *On the giving of mahkota dewa extract there were significant increase of lymphocytes proliferation on P1 and P2 groups. The highest proliferation was shown on P1 group given 35 µg extract/day.*

Lower proliferation were shown on the groups given higher dose of extract.

Keywords: *Lymphocyte proliferation, mahkota dewa, flavanoid*

* *Student of Medical Faculty of Diponegoro's University*

** *Lecturer of Histology of Medical Faculty of Diponegoro University*

PENDAHULUAN

Mahkota dewa atau *Phaleria papuana* merupakan tanaman obat tradisional yang banyak dipergunakan masyarakat untuk berbagai penyakit dan penambah stamina pada orang sehat. Mahkota dewa yang digunakan biasanya dicampur dengan berbagai bahan lain dalam satu ramuan dimana untuk setiap penyakit tidak sama.^{1,2} Akhir-akhir ini semakin banyak masyarakat memanfaatkan pengobatan alternatif karena harganya yang relatif murah dan manfaatnya memuaskan.³

Buah mahkota dewa mengandung zat kimia, antara lain *alkaloid, flavanoid, terpenoid, saponin, polifenol*, dan senyawa *resin*, sedangkan pada kulit buahnya terkandung zat, antara lain *flavanoid, tannin*. *Flavanoid* diketahui mempunyai bermacam-macam efek, antara lain efek anti tumor, anti HIV, anti mikroba dan imunostimulan.^{4,5,6,7} Penelitian terhadap daun dan batang *Astragalus membranaceus* yang mengandung *flavanoid* terbukti dapat meningkatkan produksi IL-2 dan meningkatkan proliferasi limfosit.⁸

Limfosit adalah salah satu komponen sistem imun seluler yang penting. Proliferasi dan diferensiasi limfosit diawali dengan interaksi antara makrofag dengan limfosit T. Makrofag sebagai *Antigen Presenting Cell (APC)*

mempresentasikan antigen melalui molekul MHC-II yang akan dikenal sel T naif (Th0) CD4⁺. Sel Th0 kemudian berkembang menjadi sel Th1, sel Tdth (*delayed type hypersensitivity*) atau sel Th2 tergantung dari sitokin lingkungannya. IL-2 merupakan salah satu sitokin utama yang mengatur proliferasi limfosit T yang dirangsang oleh antigen melalui reseptor IL-2 yang dimiliki pada permukaan selnya. Selain itu, IL-2 juga merangsang proliferasi dan diferensiasi sel B dan NK (*Natural Killer*). Penelitian terbaru menunjukkan proliferasi limfosit T juga dapat terjadi tanpa melalui IL-2, misalnya melalui IL-4.^{9,10}

Lien merupakan salah satu organ limfoid sekunder yang di dalamnya terdapat limfosit T maupun limfosit B, terutama di daerah pulpa putih.¹¹ Limpa atau lien merupakan organ limfoid terbesar dalam tubuh dan berfungsi menghasilkan sel limfosit dan sel plasma.¹² Folikel limfoid lien kaya dengan sel B yang berperan dalam respon imun humoral. Aktivasi dan proliferasi sel T di lien terjadi di selubung limfoid periarterioler kemudian terjadi migrasi ke zona marginalis, sebagian kecil sel T yang teraktivasi masuk ke dalam folikel limfoid, dan sebagian lainnya akan bersirkulasi ke darah perifer.¹³

Penelitian ini diharapkan dapat memperjelas pengaruh buah mahkota dewa dalam memodulasi sistem imun sehingga dapat menjadi tambahan informasi dalam pertimbangan konsumsi tanaman obat, dan dapat menjadi acuan untuk penelitian selanjutnya.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *the post test only control group design*. Menggunakan 5 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan. Penilaian dilakukan hanya pada saat *post test*, dengan membandingkan hasil observasi pada kelompok perlakuan dan kontrol, serta antar kelompok perlakuan.

Sampel penelitian diambil secara acak dari populasi terjangkau dengan kriteria inklusi sebagai berikut: mencit strain *BALB/C* jantan, umur 8 minggu, dan sehat. Kriteria eksklusinya yaitu mencit tampak sakit (gerakan

tidak aktif) dan terdapat abnormalitas anatomi yang tampak.

Jumlah sampel 5 ekor per kelompok.¹⁴ Penelitian ini menggunakan 5 kelompok hewan coba sehingga jumlah total sampel sebanyak 25 ekor. Tiap kelompok mencit mendapatkan pakan standard dan minum yang sama secara *ad libitum*. Lima kelompok mencit tersebut adalah :

Kontrol (K) : diberi aquades namun tidak diberi ekstrak mahkota dewa.

Perlakuan 1 (P1) : diberi ekstrak mahkota dewa 35 µg/hari

Perlakuan 2 (P2) : diberi ekstrak mahkota dewa 70 µg/hari

Perlakuan 3 (P3) : diberi ekstrak mahkota dewa 140 µg/hari

Perlakuan 4 (P4) : diberi ekstrak mahkota dewa 280 µg/hari

Mencit diterminasi kemudian dilakukan pengambilan lien setelah diberikan perlakuan selama 2 minggu. Isolasi limfosit dilakukan pada lien mencit yang sudah diambil kemudian dibuat preparat limfosit yang siap diperiksa. Pemeriksaan limfosit dilakukan dengan menghitung jumlah limfoblas dalam 200 sel dari tiap preparat kemudian dibuat persentasenya.

Analisa statistik yang digunakan adalah statistik non parametrik, yaitu uji *Kruskal Wallis* dan uji *Mann Whitney U*. Nilai signifikansi pada penelitian ini adalah apabila variabel yang dianalisis memiliki nilai $p \leq 0,05$.

HASIL

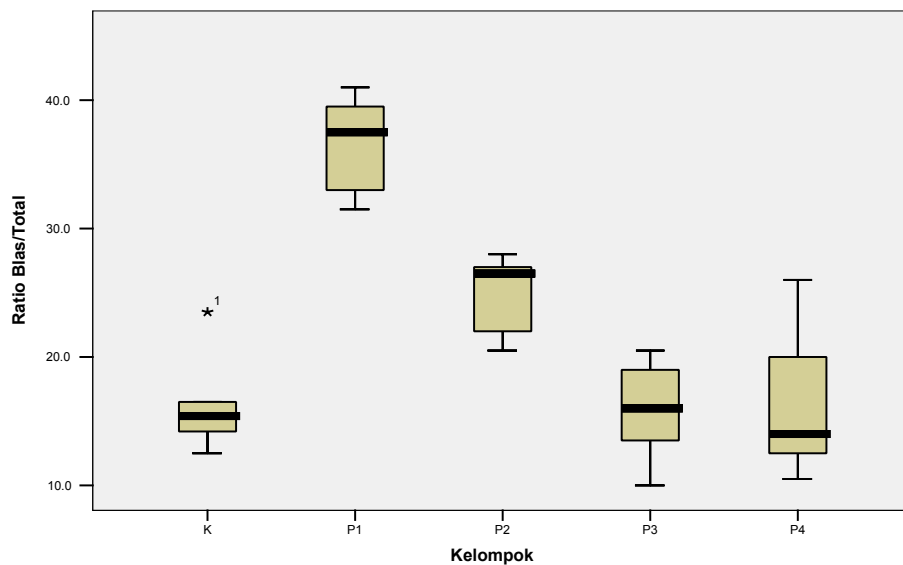
Hasil persentase jumlah limfoblas dalam 200 sel (limfosit dan limfoblas) semua kelompok ditampilkan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel.1 Persentase jumlah limfoblas semua kelompok mencit

No	K	P1	P2	P3	P4
1	23,5	39,5	26,5	20,5	20
2	14	31,5	27	10	12,5
3	16,5	41	22	13,5	26

4	15,5	33	20,5	19	14
5	12,5	37,5	28	16	10,5
Rerata ± SD	16,4 ± 4,23	36,5 ± 4,11	24,8 ± 3,33	15,8 ± 4,22	16,6 ± 6,34

Data pada tabel 1 menunjukkan bahwa persentase jumlah limfoblas paling tinggi terdapat pada kelompok P1, dan jumlah ini semakin menurun pada kelompok P2, P3, dan P4.



Gambar. 1 Grafik rerata jumlah limfoblas

Dari Gambar 1 dapat dilihat bahwa rata-rata persentase jumlah limfoblas pada kelompok P1 lebih besar dibandingkan dengan kelompok lainnya. Sedangkan kelompok P2 lebih besar dibandingkan dengan kelompok K, P3, maupun P4. Sedangkan kelompok K tidak jauh berbeda dibandingkan dengan kelompok P3 dan P4. Uji *Kruskal Wallis* didapatkan hasil $p=0,002$ ($p \leq 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna.

Tabel. 2 Nilai p dari uji statistik *Mann Whitney U* jumlah limfoblas

K	P1	P2	P3
---	----	----	----

P1	0,009*			
P2	0,028*	0,009*		
P3	0,917	0,009*	0,012*	
P4	0,675	0,009*	0,028*	0,917

* Bermakna

Selanjutnya pada uji *Mann Whitney U* (Tabel 2) dapat dilihat bahwa ada perbedaan yang bermakna antara jumlah limfoblas pada kelompok P1 dibandingkan K ($p=0,009$), P2 dibandingkan K ($p=0,028$) dan P1 ($p=0,009$), P3 dibandingkan P1 ($p=0,009$) dan P2 ($p=0,012$), serta P4 dibandingkan P1 ($p=0,009$) dan P2 ($0,028$).

Sedangkan perbedaan yang tidak bermakna didapatkan antara kelompok P3 dibandingkan K ($p=0,917$), kelompok P4 dibandingkan K ($p=0,675$), serta kelompok P4 dibandingkan P3 ($p=0,917$).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada kelompok mencit yang diberi ekstrak mahkota dewa 35 $\mu\text{g}/\text{hari}$ selama 2 minggu dibanding dengan kelompok kontrol didapatkan perbedaan jumlah limfoblas yang bermakna ($p=0,009$). Demikian juga antara kelompok yang diberi ekstrak buah mahkota dewa 70 $\mu\text{g}/\text{hari}$ selama 2 minggu dengan kelompok kontrol ($p=0,028$).

Penelitian Jiao *et al* menunjukkan bahwa senyawa *flavanoid* dari batang dan daun *Astragalus membranaceus* dapat meningkatkan aktivitas IL-2 dan meningkatkan proliferasi limfosit.⁸ Hal inilah yang dapat menyebabkan peningkatan proliferasi limfosit secara bermakna antara kelompok perlakuan yang diberi ekstrak mahkota dewa 35 $\mu\text{g}/\text{hari}$ dan 70 $\mu\text{g}/\text{hari}$ selama 2 minggu dengan kelompok kontrol.

Kelompok yang diberikan ekstrak buah mahkota dewa 140 $\mu\text{g}/\text{hari}$ selama 2 minggu dibandingkan dengan kelompok kontrol didapatkan perbedaan jumlah limfoblas yang tidak bermakna ($p=0,917$). Begitu pula antara

kelompok yang mendapat ekstrak mahkota dewa 280 µg/hari selama 2 minggu dengan kelompok kontrol (p=0,675). Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan akan didapatkan peningkatan proliferasi limfosit yang semakin rendah.

Middleton et al, menyebutkan bahwa senyawa *flavanoid* selain mempunyai efek imunostimulan juga memiliki efek immunosupresan.¹⁵ *Astilbin*, salah satu jenis *flavanoid*, diketahui memiliki efek menekan reaksi hipersensitivitas tipe lambat dengan cara menghambat fungsi limfosit.^{16,17} *Nepetin*, *flavanoid* dari *Eupatorium ballotaefolium*, dan *Phytoalexins*, *flavanoid* dari *Sophora exigua (Leguminosae)*, juga telah diketahui memiliki efek sitotoksik serta antibakterial.^{18,19} *Flavanoid* yang lain, *Quercetin* dan *fisetin*, diketahui berefek sitoprotektif pada konsentrasi rendah namun berefek sitotoksik pada konsentrasi tinggi.²⁰ Adanya efek sitotoksik dan immunosupresan dari *flavanoid* menyebabkan terjadinya hambatan terhadap proliferasi limfosit, terutama pada pemberian dosis tinggi.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pada pemberian ekstrak buah mahkota dewa didapatkan peningkatan proliferasi limfosit lien yang bermakna pada mencit *BALB/C* kelompok P1 dan P2, dimana proliferasi tertinggi didapatkan pada kelompok P1 yang diberi ekstrak 35 µg/hari.

Semakin tinggi dosis ekstrak mahkota dewa yang diberikan akan didapatkan peningkatan proliferasi limfosit yang semakin rendah.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian yang menghubungkan tingkat toksisitas buah mahkota dewa dengan dosis ekstrak yang diberikan, khususnya terhadap berbagai organ vital seperti hepar dan ginjal.
2. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui jenis senyawa *flavanoid* yang terkandung dalam buah mahkota

dewa.

3. Perlu dilakukan penelitian menggunakan ekstrak mahkota dewa yang sudah difraksinasi untuk menghilangkan pengaruh dari fraksi yang lain.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terutama untuk penggunaannya pada manusia sehat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan syukur kepada Allah Yang Maha Agung serta shalawat kepada Nabi Muhammad SAW. Penulis berterima kasih kepada dr. Ratna Damma Purnawati, M.Kes atas bantuan dan bimbingannya sehingga penulis dapat menyelesaikan artikel ini. Kepada seluruh staf bagian Histologi dan Laboratorium Bioteknologi yang telah membantu pelaksanaan ini. Kepada dr. Dayat yang telah membantu dalam pembuatan foto preparat. Kepada ibunda tercinta, Dra. Hj. Tasnim Muhammad, M.Ag, atas segala perhatian, doa, dorongan, bantuan, dan kasih sayangnya yang tulus. Kepada almarhum ayahanda, Drs. Ahmad Dzulkarom, semoga Alloh memuliakan kedudukan beliau di surga-Nya. Kepada adik-adik tersayang (Isa, Yahya, Nita) atas semua senyum dan sambutan hangat kalian yang sangat menyejukkan hati. Kepada teman-teman (khususnya yang bekerjasama sekelompok dalam membuat karya tulis ilmiah : Emi, Lini, Nopi) dan kakak-kakak pembimbing (khususnya mas Santoso) yang telah memberikan dorongan moral dan material hingga selesai pembuatan karya ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lisdawati V. Buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) toksisitas, efek antioksidan dan efek antikanker berdasarkan uji penapisan farmakologi. From : <http://www.mahkotadewa.com/VPC/vivi.htm>. Diakses 20 Oktober 2002

2. Winarto W.P. Mahkota dewa budi daya dan pemanfaatan untuk obat. Jakarta: Penebar Swadaya; 2003
3. Sepgana S, Iwang S, Ganthina. Skrining fitokimia dan asam fenolat daun dewa/*Gynura procumbens* (Lour.) merr. Simposium penelitian Tumbuhan obat III, Universitas Indonesia, Jakarta 1988.
4. Sumastuti R, M Sonlimar. Efek sitotoksik ekstrak buah dan daun mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (Sceff) Boerl.] terhadap sel hela. Available at: URL: <http://www.tempointeraktif.com/medika/online/index-isi.asp?file=art-3>. Diakses 20 Juni 2003
5. Wonohadi E, Hindargo ND, Palupi S. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria papuana* Warb.) dengan Metode Brine Shrimp. From : <http://www.smup.unpad.ac.id>. Diakses 2 Juli 2006
6. Cushnie TP, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. From : http://www.propoleo.cl/cientificospropolis/MEDLINE_ANTIVIRAL_PROPOLEOS. Accessed : July 2, 2006
7. Anonymous. Mahkota dewa. Dari : http://id.wikipedia.org/wiki/Mahkota_Dewa. Diakses 30 Jul 2006
8. Jiao Y, Wen J, Yux. Influence of flavanoid of *Astragalus membranaceus*'s stem and leaves on the function of cell mediated immunity in mice. Available at: URL:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. Accessed Juny 20, 2003
9. Baratawidjaja K. Immunologi dasar. Ed 4. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2000. h. 58-66
10. Subowo. Immunologi klinik. Cetakan ke-1. Bandung: Penerbit Angkasa; 1993. h. 84-86
11. Weir DM. Segi praktis imunologi. Alih Bahasa: Suryawidjaja, JE. Cetakan 1. Jakarta: Binarupa Aksara; 1990. h. 14
12. Nurdjaman, Soejoto, Soetedjo, Hussein SM, Susilaningsih N, Purnawati RD, et al. Lecture Note Histologi 1. Semarang: Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2003
13. Abbas A, Lichtman AH, Pober JS. Antigen presentation and cell antigen recognition. In: Cellular and molecular immunology. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1997. p. 116-35.
14. World Health Organization. Research guidelines for evaluating The safety and efficacy of herbal medicines. Manila: World Health Organization Regional Office for The Western Pacific; 1993. h. 35.
15. Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*. Desember 2000;52 (4): 673-751
16. Cai Y, Chen T, Xu Q. Astilbin suppressed delayed-type hypersensitivity by inhibiting lymphocyte migration. From : http://www.hairsite4.com/dc/dcboard.php?az=show_topic&forum=8&topic_id=9766&mesg_id=9766 . Accessed : July 2, 2006
17. Yang X, Sun Y, Xu Q, Guo Z. Synthesis and immunosuppressive activity of L-rhamnopyranosyl flavonoids.

From : <http://www.rsc.org>. Accessed : July 2, 2006

18. Militão GC; Albuquerque MR; Pessoa OD; Pessoa C; Moraes ME; de Moraes MO; Costa-Lotufo LV. Cytotoxic activity of nepetin, a flavonoid from *Eupatorium ballotaefolium* HBK. From : www.medscape.com/medline/abstract/15638088. Accessed : July 30, 2006
19. Flavanones with potent antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Pharm Pharmacol* 46 : 892-5, 1994. From : <http://www.provide.net/~aelewis/aelp/doc-004a.htm>. Accessed : July 30, 2006
20. Low Concentrations of Flavonoids Are Protective in Rat H4IIE Cells Whereas High Concentrations Cause DNA Damage and Apoptosis^{1,2}. *J. Nutr.* 135: 525-531, 2005. From : <http://www.redorbit.com/news/technology>. Accessed: July 30, 2006

Lampiran 1

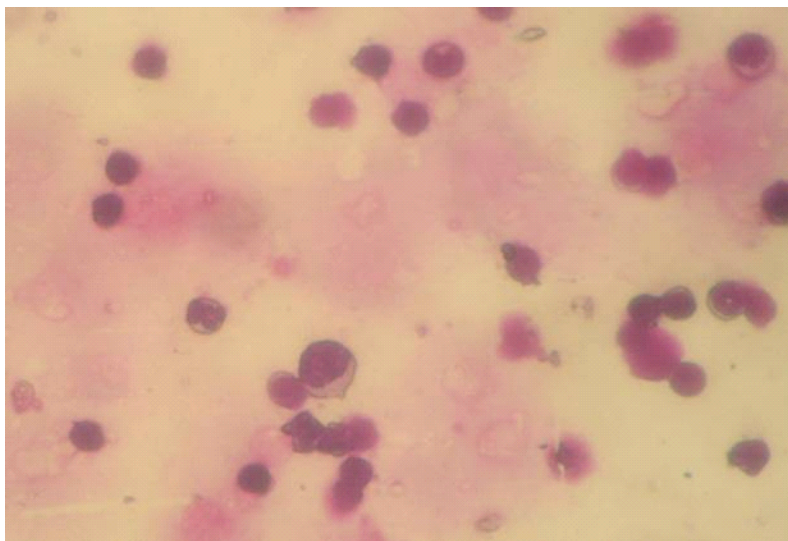


Foto preparat limfosit lien perbesaran 400x,

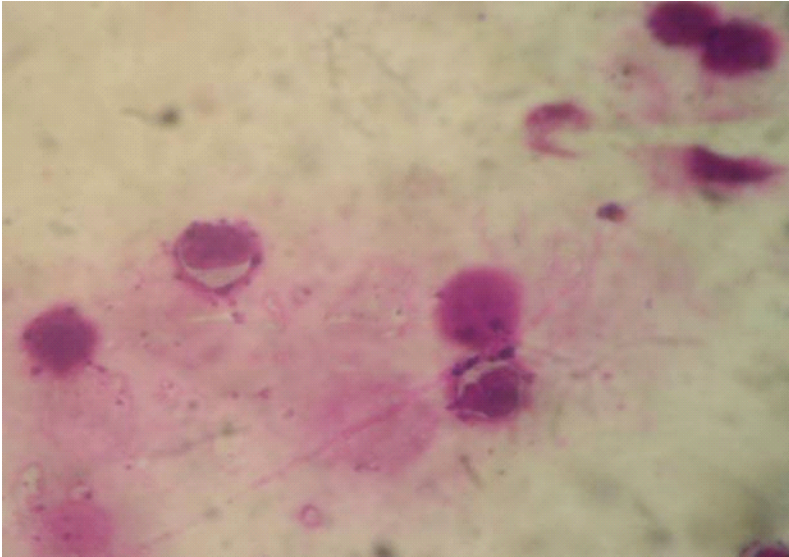


Foto preparat limfosit lien perbesaran 1000x

*Keterangan Gambar :

: Limfoblas

: Limfosit

Lampiran 2

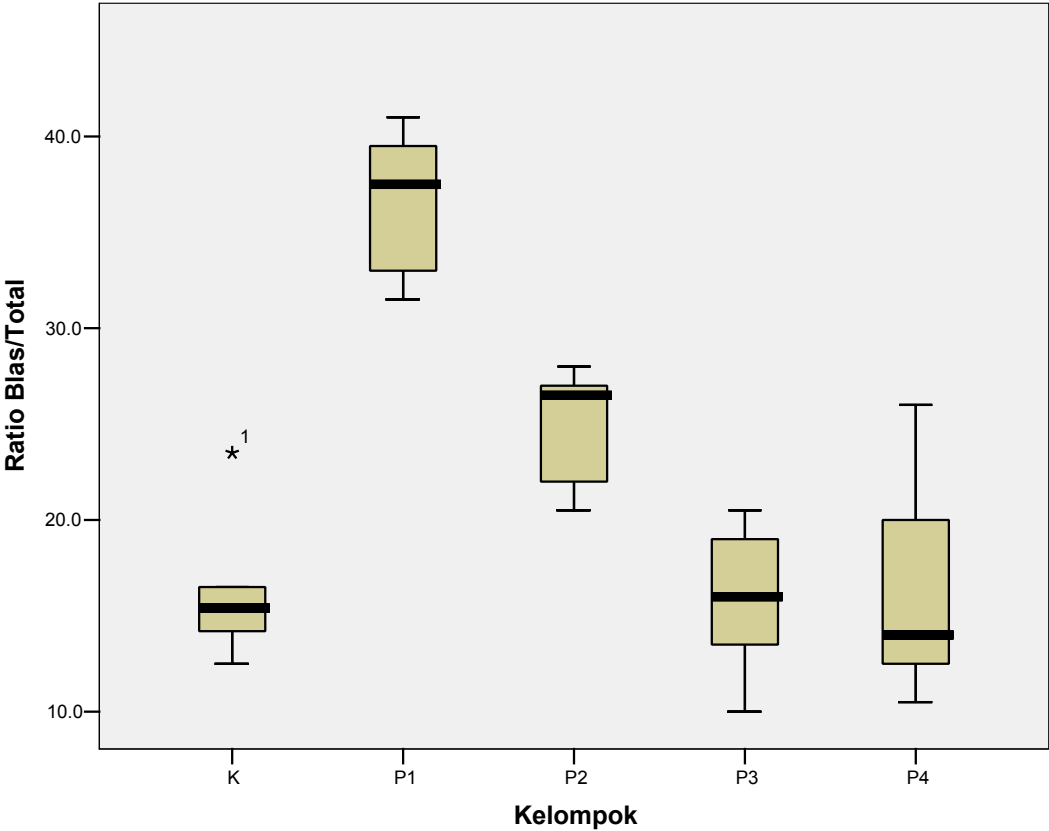
Descriptives

Variable	Statistic	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
K	Descriptives	11.1	1.89	10.4	12.0
	Frequency	11			
	Percentage	100.0%			
	Valid N (listwise)	11			
	Sum	122.1			
	Sum of Squares	11.1			
	Mean	11.1			
	Std. Deviation	1.89			
	Minimum	10.4			
	Maximum	12.0			
F	Descriptives	31.3	1.83	29.5	32.5
	Frequency	11			
	Percentage	100.0%			
	Valid N (listwise)	11			
	Sum	344.3			
	Sum of Squares	31.3			
	Mean	31.3			
	Std. Deviation	1.83			
	Minimum	29.5			
	Maximum	32.5			
F	Descriptives	24.8	1.48	23.8	25.8
	Frequency	11			
	Percentage	100.0%			
	Valid N (listwise)	11			
	Sum	272.8			
	Sum of Squares	24.8			
	Mean	24.8			
	Std. Deviation	1.48			
	Minimum	23.8			
	Maximum	25.8			
F	Descriptives	10.2	1.88	8.4	11.8
	Frequency	11			
	Percentage	100.0%			
	Valid N (listwise)	11			
	Sum	112.2			
	Sum of Squares	10.2			
	Mean	10.2			
	Std. Deviation	1.88			
	Minimum	8.4			
	Maximum	11.8			
F	Descriptives	11.2	1.13	10.2	12.2
	Frequency	11			
	Percentage	100.0%			
	Valid N (listwise)	11			
	Sum	123.2			
	Sum of Squares	11.2			
	Mean	11.2			
	Std. Deviation	1.13			
	Minimum	10.2			
	Maximum	12.2			

Tests of Normality

R	K	.505	2	.188	.888	2	.520
	F	.503	2	.500	.151	2	.234
	F	.502	2	.178	.882	2	.548
	F	.178	2	.500	.888	2	.880
	F	.529	2	.500	.913	2	.482

Ratio Blas/Total



NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

	Rank		
F	K	2	8.90
	F	2	23.00
	F	2	17.10
	F	2	7.90
	F	2	8.10
	T	25	

Test 2

C	19.99
b	4
A	200.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

	Rank			
F	K	2	3.00	12.00
	F	2	8.00	40.00
	T	10		

Test Statistic

V	000.
V	12.00
Z	-2.91
A	000.
E	800.
2	

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
R	K	2	3.40	17.00
	F	2	7.60	38.00
	T	10		

Test Statistic

N	5.000
V	17.00
Z	-2.161
A	.058
E	.032
S	

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
R	K	2	2.60	58.00
	F	2	2.40	57.00
	T	10		

Test Statistic

N	12.00
V	27.00
Z	-1.04
A	.917
E	1.000
S	

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
R	K	2	2.00	20.50
	F	2	2.10	22.50
	T	10		

Test Statistic

N	10.50
V	22.50
Z	-.419
A	.625
E	.000
S	

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
R	F	2	00.8	00.400
	F	2	00.3	00.120
	T	10		

Test Statistic

N	.000
V	12.00
Z	-.201
A	.000
E	.000
S	

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
F	F	2	00.8	00.04
	F	2	00.3	00.12
	T	10		

Test Statistic

N	000.
V	12.00
Z	-2.91
A	009.
E	008.
S	

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
F	F	2	00.8	00.04
	F	2	00.3	00.12
	T	10		

Test Statistic

N	000.
V	12.00
Z	-2.91
A	009.
E	008.
S	

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
F	F	2	7.90	39.20
	F	2	3.10	12.20
	T	10		

Test Statistic

N	200
V	12.20
Z	-2.21
A	.012
E	.008
S	

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
F	F	2	7.90	39.20
	F	2	3.40	12.00
	T	10		

Test Statistic

N	200
V	12.00
Z	-2.19
A	.028
E	.032
S	

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

R	F	2	04.2	00.27
	F	2	00.2	00.28
	T	10		

Test Statistic

N	00.21
V	00.27
Z	-0.104
A	0.917
E	000.1
S	

PROSEDUR ISOLASI SPLENOSIT MENCIT DAN PEMERIKSAAN PROLIFERASI LIMFOSIT

Alat:

1. Pemanas alkohol
2. Beaker glass volume 50-70 ml
3. Gunting
4. Pinset
5. Petri dishes plastik
6. Refrigerated centrifuge
7. Pipet Pasteur
8. *Laminar flow hood*

Bahan :

1. NH₄Cl
2. PBS (*Phosphat Buffer Saline*)

Prosedur :

1. Rendam gunting dan pinset dalam ethanol 95 %. Gunting peritoneum dengan irisan berbentuk huruf U mengelilingi limpa. Peritoneum dilipat ke atas, angkat limpa dengan menggunakan pinset. Pisahkan limpa dari pembuluh darah dan jaringan sekitarnya menggunakan gunting. Letakkan limpa pada petri dish berisi 1,5 ml PBS.
2. Hancurkan limpa menggunakan pinset.
3. Dengan menggunakan pipet Pasteur, pindahkan suspensi sel ke tabung pemusing. Biarkan sel-sel yang mengumpal mengendap selama 5 atau 6 menit.
4. Pindahkan suspensi sel ke tabung yang lain dan pusingkan sel pada kecepatan 200 xg selama 10 menit pada suhu 4°C. Pellet yang didapat diresuspensikan dalam 2 ml *lysing buffer* pada

suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) untuk melisiskan eritrosit, lalu pusingkan pada kecepatan 200 xg selama 10 menit pada suhu 4°C .

5. Buang supernatan dan pellet dicuci 2x dengan PBS dengan cara dipipet berulang-ulang dan dipusingkan pada kecepatan 200 xg selama 10 menit pada suhu 4°C
6. Hitung sel-sel dengan menggunakan hemasitometer dengan kepadatan 3×10^7 sel/ml.

Prosedur pemeriksaan Proliferasi limfosit :

- Teteskan 1 tetes pada object glass, untuk dibuat sediaan hapus, keringkan di udara
- Fiksasi dengan methanol
- Cat dengan Giemsa.

Lampiran 4

DOSIS KONVERSI MAHKOTA DEWA

Konversi dosis pada manusia yang beratnya 70 kg ke mencit yang berat badannya 20 gram adalah : 0,0026
(Laurence & Bacharach, 1964)

Dosis mahkota dewa untuk manusia : 5 gram buah Phaleria papuana kering.

Perhitungan :

1,8 Kg buah Phaleria papuana kering setara dengan 10 gram ekstrak.

Jadi, 5 gram buah Phaleria papuana kering setara dengan:

$$= \frac{5g}{1800g} \times 10g \text{ ekstrak}$$

$$= 28 \text{ mg ekstrak}$$

Faktor konversi: 0,0026

Dosis untuk mencit dengan berat 20 gram adalah:

$$= 0,0026 \times 28 \text{ mg}$$

$$= 0,0728 \text{ mg}$$

$$= 72,8 \mu\text{g ekstrak (dibulatkan menjadi } 70 \mu\text{g ekstrak)}$$

Untuk pemberian ke mencit dibuat larutan dari ekstrak buah Phaleria papuana dengan konsentrasi 186,67 $\mu\text{g/ml}$.

Selanjutnya untuk dosis bertingkat ke bawah dan ke atas dari dosis di atas yaitu :

$$\text{Mahkota dewa dosis } 280 \mu\text{g} = 1,5 \text{ cc larutan ekstrak}$$

$$\text{Mahkota dewa dosis } 140 \mu\text{g} = 0,75 \text{ cc larutan ekstrak (dibulatkan } 0,8 \text{ cc)}$$

$$\text{Mahkota dewa dosis } 70 \mu\text{g} = 0,375 \text{ cc larutan ekstrak (dibulatkan } 0,4 \text{ cc)}$$

$$\text{Mahkota dewa dosis } 35 \mu\text{g} = 0,1875 \text{ cc larutan ekstrak (dibulatkan } 0,2 \text{ cc)}$$