

**EFEK PENGHAMBATAN ANAFILAKSIS KUTAN AKTIF KOMBINASI  
EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN HERBA  
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* N.) PADA TIKUS  
YANG DIINDUKSI OVALBUMIN**

*TESIS*

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai  
derajat Sarjana Strata-2  
Program Studi S2 Farmasi  
Minat Farmasi Sains*



**Oleh :**

**Dian Arsanti Palupi  
SBF 031210022**

**PROGRAM STUDI S2 FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2014**

**EFEK PENGHAMBATAN ANAFILAKSIS KUTAN AKTIF KOMBINASI  
EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN HERBA  
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* N.) PADA TIKUS  
YANG DIINDUKSI OVALBUMIN**



**Oleh :**

**Dian Arsanti Palupi**  
**SBF 031210022**

**PROGRAM STUDI S2 FARMASI**  
**FAKULTAS FARMASI**  
**UNIVERSITAS SETIA BUDI**  
**SURAKARTA**  
**2014**

**PENGESAHAN TESIS**

berjudul

**EFEK PENGHAMBATAN ANAFILAKSIS KUTAN AKTIF KOMBINASI  
EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN HERBA  
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* N.) PADA TIKUS  
YANG DIINDUKSI OVALBUMIN**

Oleh :

**Dian arsanti Palupi  
SBF 031210022**

Dipertahankan di hadapan Dewan Penguji Tesis  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada Tanggal : 03 Mei 2014



Mengetahui ,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi  
Dekan,

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama,

Prof. Dr. Ediati Sasmito, SE, Apt

Pembimbing pendamping,

Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si, Apt.

Penguji:

1. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt

2. Dr. Arief Nurrochmad, M.Si., M.Sc., Apt.

2. ....

3. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si, Apt.

3. ....

4. Prof. Dr. Ediati Sasmito, SE, Apt.

4. ....

## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

*Kupersembahkan kepada Allah SWT, segala puji dan syukur atas segala rahmat dan*

*karuniaNya yang senantiasa diberikan kepada hamba, dan shalawat*

*kepada Nabi Muhammad SAW, sebagai Rahmatanlilalamin*

*Ibunda Sri Wahyuni dan ayahanda Abdul Kalim (alm), serta ibunda S.Muslichah*

*dan ayahanda M.Suhadi atas doa dan harapan yang tulus*

*senantiasa dipanjatkan kehadirat Allah SWT*

*dalam mengiringi setiap langkah.*

*Suamiku Abdul Rahman A atas kesabaran, kesempatan dan motivasi yang*

*senantiasa diberikan, dan anakku semata wayang Rizal Abdul Ghani*

*sebagai sumber segala inspirasi hidup.*

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar magister di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila tesis ini merupakan jiplakan dari penelitian/ karya ilmiah/ skripsi/ tesis/ disertasi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Mei 2014

Dian Arsanti Palupi

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbilalamin atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan judul “EFEK PENGHAMBATAN ANAFILAKSIS KUTAN AKTIF KOMBINASI EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN HERBA SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* N.) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI OVALBUMIN”. Penyusunan tesis ini bertujuan untuk memenuhi syarat memperoleh gelar magister pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Banyak hal yang penulis dapatkan dalam proses pembuatan tesis ini baik berupa bimbingan, petunjuk dan saran-saran yang berguna dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini dengan tulus penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Winarso Suryolegowo, SH., M.Pd. selaku rektor Universitas Setia Budi Surakarta
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi di Surakarta.
3. Prof. Dr. Ediati Sasmito, SE, Apt. selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, perhatian dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu dan bimbingan dalam penyusunan tesis ini.
4. Dr. Gunawan Pamudji, M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah banyak membantu penulis dalam memberikan masukan dan bimbingan dalam menyelesaikan tesis ini.

5. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt dan Dr. Arif Nurrochmad, M.Si., M.Sc., Apt, selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan bimbingan yang sangat berharga dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan tesis ini.
6. Asisten pembimbing di Laboratorium Biologi sel dan Histologi Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta.
7. Asisten pembimbing di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM atas bantuan dan keikhlasannya dalam melakukan penelitian ini.
8. Asisten pembimbing di Laboratorium Fitokimia UNS, Surakarta.
9. Asisten pembimbing di Laboratorium Farmakologi USB, Surakarta.
10. Seluruh keluarga tercinta yang selalu memberikan dukungan dan doanya.
11. Teman-temanku: Hastuti, Wiwik, Nuri, Yeli, Matias, Risman dan Echa, terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya selama penyusunan Tesis ini.
12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu sehingga dapat menyelesaikan studi ini, semoga segala bantuan dan motivasinya mendapat balasan dari Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa penulisan tesis ini masih banyak kekurangan dan kelemahan karena keterbatasan penulis untuk itu kritik dan saran dari pembaca sangat penulis harapkan dalam penyempurnaan penulisan tesis ini. Semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca untuk perkembangan dunia farmasi yang lebih baik.

Surakarta , Mei 2014

Penulis





## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
DAFTAR SINGKATAN .....	xiv
INTISARI .....	xv
ABSTRACT .....	xvi
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Perumusan Permasalahan .....	5
C. Tujuan Penelitian .....	6
D. Kegunaan Penelitian .....	6
E. Keaslian Penelitian .....	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	8
A. Hipersensitivitas .....	8
1. Reaksi Hipersensitivitas Tipe I .....	9
2. Reaksi Hipersensitivitas Tipe II .....	10
3. Reaksi Hipersensitivitas Tipe III .....	11
4. Reaksi Hipersensitivitas Tipe IV .....	11
B. Penatalaksanaan Hipersensitivitas .....	12
1. Terapi Non Farmakologi .....	13

2. Terapi Farmakologi .....	13
C. Immunoglobulin E ( IgE) .....	14
D. Antihistamin .....	16
E. Natrium Kromolin .....	18
F. Ovalbumin .....	19
G. Alumunium Hidroksida .....	20
H. Jintan Hitam .....	20
1. Klasifikasi Tanaman.....	21
2. Nama Lain .....	21
3. Morfologi Tanaman.....	21
4. Kandungan Kimia .....	22
5. Khasiat.....	22
I. Herba Sambiloto .....	23
1. Klasifikasi Tanaman.....	23
2. Nama Lain .....	23
3. Morfologi Tanaman.....	24
4. Kandungan Kimia.....	24
5. Khasiat.....	24
J. Simplisia Dan Ekstraksi .....	25
1. Pengertian Simplisia .....	25
2. Ekstraksi .....	25
3. Cairan Penyari .....	26
K. Identifikasi Kandungan Kimia .....	27
1. Terpenoid .....	27
2. Flavonoid .....	27
3. Saponin .....	28
4. Tanin .....	29
5. Alkaloid .....	29
L. Kromatografi Lapis Tipis .....	30
M. Histopatologi .....	33
1. Histologi Sel Mast .....	33
2. Prosedur Uji Histopatologi.....	34
2.1. Fiksasi Jaringan.....	34
2.2. Dehidras Jaringan.....	34
2.3. Clearing Jaringan.....	34
2.4. Pembuatan blok parafin.....	34
2.5. Pengirisan jaringan.....	35
2.6. Deparafinasi Dan Rehidrasi.....	35
2.7. Pewarnaan jaringan.....	35
2.8. Pengamatan jaringan dengan mikroskop.....	35
N. Landasan Teori .....	35
O. Hipotesis .....	38
 BAB III. METODE PENELITIAN .....	 39
A. Populasi Dan Sampel .....	39

B. Variabel Penelitian .....	39
1. Identifikasi Variabel Utama .....	39
2. Klasifikasi Variabel Utama .....	39
3. Definisi Operasional Variabel Utama .....	41
C. Bahan Dan Alat .....	41
1. Bahan .....	41
2. Alat .....	42
3. Hewan Uji .....	43
D. Jalannya Penelitian .....	43
1. Identifikasi Serbuk .....	43
1.1. Identifikasi makroskopis serbuk.....	43
1.2. Identifikasi mikroskopis serbuk.....	43
2. Penetapan Susut Pengerangan Serbuk.....	44
3. Pembuatan Ekstrak .....	44
4. Identifikasi Kandungan Senyawa .....	45
4.1. Identifikasi terpenoid.....	45
4.2. Identifikasi flavonoid.....	45
4.3. Identifikasi saponin.....	45
4.4. Identifikasi tanin.....	46
4.5. Identifikasi alkaloid.....	46
5. Kromatografi Lapis Tipis.....	46
5.1. Ekstrak biji jintan hitam.....	46
5.2. Ekstrak herba sambiloto.....	47
6. Penetapan Dosis .....	47
6.1. Dosis jintan hitam.....	47
6.2. Dosis herba sambiloto.....	47
6.3. Dosis kombinasi ekstrak.....	47
7. Pembuatan Larutan .....	48
7.1. Pembuatan larutan Na.CMC 0,5%.....	48
7.2. Pembuatan suspensi ekstrak.....	48
7.3. Pembuatan larutan Na.kromolin.....	48
7.4. Pembuatan suspensi ovalbumin 0,1%.....	48
7.5. Pembuatan suspensi ovalbumin 0,52%.....	49
7.6. Pembuatan larutan <i>evans blue</i> 1,5%.....	49
8. Pengujian <i>In Vivo</i> Reaksi Anafilaksis Kutan Aktif .....	49
9. Pengukuran Diameter Area Pigmentasi.....	50
10. Pembuatan Preparat Histopatologi Jaringan Kulit .....	51
10.1. Fiksasi.....	51
10.2. Dehidrasi.....	51
10.3. <i>Clearing</i> .....	51
10.4. Pembuatan blok parafin.....	52
10.5. Pengirisan jaringan.....	52
10.6. Deparafinasi.....	52
10.7. Pewarnaan jaringan.....	52
10.8. Rehidrasi.....	52
10.9. Pengamatan jaringan dengan mikroskop.....	53

E. Analisa Hasil .....	53
1. Data Kuantitatif Diameter Area Pigmentasi .....	53
2. Data Semi Kuantitatif Gambaran Histopatologi .....	55
F. Prosedur Penelitian .....	56
 BAB. IV. Hasil dan Pembahasan .....	 58
A. Identifikasi Serbuk Simplisia .....	58
1. Uji Makroskopis .....	58
2. Uji Mikroskopis .....	59
3. Penetapan Susut Pengerinan .....	62
B. Pembuatan Ekstrak Biji Jintan Hitam Dan Herba Sambiloto ..	63
C. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia .....	64
1. Hasil Identifikasi Senyawa Kimia .....	64
2. Hasil Profil KLT .....	66
2.1. Ekstrak biji jintan hitam.....	66
2.2. Ekstrak herba sambiloto.....	67
D. Uji Efek Penghambatan Anafilaksis Kutan <i>In Vivo</i> .....	67
E. Uji Histopatologi Jaringan Kulit .....	75
 BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	 83
A. Kesimpulan .....	83
B. Saran .....	83
 BAB VI. RINGKASAN .....	 84
 DAFTAR PUSTAKA .....	 88
 LAMPIRAN .....	 96

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Mekanisme Reaksi Hipersensitivitas .....	10
2. Ikatan Immunoglobulin E (IgE) Dengan Reseptor Fc $\epsilon$ r .....	15
3. Ikatan Silang IgE Dengan Antigen.....	15
4. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak .....	56
5. Skema Kerja Efek Penghambatan Anafilaksis Kutan Aktif .....	57
6. Foto Serbuk Biji Jintan Hitam.....	58
7. Foto Serbuk Herba Sambiloto .....	58
8. Foto Fragmen Pengenal Serbuk Biji Jintan Hitam .....	60
9. Foto Fragmen Pengenal Serbuk Herba Sambiloto .....	61
10. Foto Profil KLT Ekstrak Biji Jintan Hitam .....	66
11. Foto Profil KLT Ekstrak Herba Sambiloto .....	67
12. Kurva Luas Area Pigmentasi vs Waktu .....	70
13. Grafik Persen Penghambatan Anafilaksis Kutan Aktif .....	71
14. Foto Histopatologi Jaringan Kulit Kelompok Kontrol .....	75
15. Foto Histopatologi Jaringan Kulit Kelompok Dosis Tunggal .....	77
16. Foto Histopatologi Jaringan Kulit Kelompok Dosis Kombinasi ...	78
17. Kurva Korelasi Jumlah Sel Mast Utuh .....	81

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Perbandingan Berbagai Jenis Hipersensitivitas .....	12
2. Hasil Pemeriksaan Organoleptik Serbuk Jintan Hitam .....	59
3. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Biji Jintan Hitam .....	62
4. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Herba Sambiloto .....	62
5. Hasil Identifikasi Kualitatif Serbuk.....	64
6. Hasil Identifikasi Kualitatif Ekstrak .....	65
7. Potensi Penghambatan Kombinasi Ekstrak .....	74
8. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Mast Utuh .....	79
9. Korelasi Jumlah Sel Mast Utuh .....	81

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Surat Keterangan Identifikasi Tanaman .....	96
2. Surat Keterangan Histopatologi .....	97
3. Perhitungan Rendemen Ekstrak .....	98
4. Perhitungan Susut Pengeringan .....	99
5. Penyiapan Sediaan Uji .....	100
6. Foto Identifikasi Kualitatif Serbuk .....	101
7. Foto Identifikasi Kualitatif Ekstrak .....	103
8. Foto Perlakuan Hewan Uji .....	104
9. Data Diameter Area Pigmentasi .....	105
10. Data Luas Area Pigmentasi .....	106
11. Data AUC jam ke-1 sampai ke-8 .....	107
12. Data Persen Penghambatan Anafilaksis Kutan Aktif .....	108
13. Hasil Uji Statistik AUC .....	109
14. Hasil Uji Statistik Persen Penghambatan Anafilaksis .....	114
15. Hasil Uji Statistik Korelasi Jumlah Sel Mast .....	119

## DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: <i>Analisis Varian</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cells</i>
AUC	: <i>Area Under Curve</i>
FcεRI	: <i>Fragmen crystallizable epsilon Receptor IgE</i>
HMC-1	: <i>Human Mast Cell Line-1</i>
IgE	: <i>Imunoglobulin E</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
LSD	: <i>Least Significant Difference</i>
LT	: <i>Leukotriene</i>
MHC	: <i>Mayor Histocompatibility Complex</i>
Na-CMC	: <i>Natrium Carboxy-Methyl-Cellulose</i>
NF-κB	: <i>Nuclear Factor Kappa Beta</i>
P<0,05	: <i>Probability kurang dari 0,05</i>
PAF	: <i>Platelet Actifating Factor</i>
PBS	: <i>Phosphate-Buffered Saline</i>
PGD	: <i>Prostaglandin</i>
SD	: <i>Standard Deviation</i>
SLE	: <i>Systemic Lupus erymathematosus</i>
Syk	: <i>Spleen tyrosine kinase</i>
TCR	: <i>T cell receptor</i>
Th2	: <i>T helper</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>



## INTISARI

**PALUPI, D.A., 2014 EFEK PENGHAMBATAN ANAFILAKSIS KUTAN AKTIF KOMBINASI EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN HERBA SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* N.) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI OVALBUMIN, TESIS, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Biji jintan hitam dan herba sambiloto berpotensi menghambat degranulasi sel mast. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek penghambatan anafilaksis dari ekstrak etanol 96% biji jintan hitam dan herba sambiloto pada tikus yang diinduksi ovalbumin.

Hewan uji dikelompokkan menjadi 10 kelompok (@ 4 ekor). Kelompok uji I-II diberi ekstrak tunggal yang disuspensikan dalam Na. CMC 0,5% per oral. Kelompok III-VII diberi kombinasi ekstrak biji jintan hitam dan herba sambiloto. Kontrol negatif (Kelompok VIII) diberi Na. CMC 0,5% per oral dan kontrol positif diberi Na.kromolin secara sub kutan (Kelompok IX), serta kelompok normal (X). Hewan uji disensitisasi 2 kali (1x setiap minggu) dengan ovalbumin secara subkutan pada punggung tikus. Minggu kedua disuntik *evans blue* 1,5% intravena, untuk mendukung data farmakologi dilakukan uji histopatologi jaringan kulit dengan *toluidine blue*.

Hasil uji statistik kelompok natrium kromolin, ekstrak jintan hitam dan sambiloto dosis 30 mg, 120 mg; (15:60)mg; (22,5:30)mg; (7,5:90)mg; (7,5:60)mg; (22,5:90)mg/kgBB menghasilkan perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif, dan menghasilkan persen penghambatan anafilaksis kutan aktif berturut-turut  $14,30 \pm 6,15^*$ ;  $11,79 \pm 5,74^*$ ;  $34,81 \pm 4,85^*$ ;  $27,02 \pm 4,66^*$ ;  $21,05 \pm 5,84^*$ ;  $23,84 \pm 4,73^*$ ;  $38,52 \pm 4,71^*$ . Hasil ini didukung oleh pengamatan histopatologi jaringan kulit yang menunjukkan adanya korelasi yang sangat kuat antara jumlah sel mast utuh dengan persen penghambatan anafilaksis kutan aktif.

Kata kunci :biji jintan hitam, sambiloto, anafilaksis, ovalbumin, sel mast

## ABSTRACT

### **PALUPI, D.A., 2014, ACTIVE CUTANEOUS ANAPHYLAXIS INHIBITORY ACTIVITY OF THE COMBINATION EXTRACT OF BLACK CUMIN SEEDS (*Nigella sativa* Linn) AND HERBACEOUS BITTER (*Andrographis paniculata* Nees) IN OVALBUMIN INDUCED WISTAR RATS**

Black cumin seeds (*Nigella sativa* L.) and herbaceous bitter/sambiloto (*Andrographis paniculata* N.) have been potentially studied to inhibit mast cell degranulation. This study aimed was to determine the inhibitory activity of active cutaneous anaphylaxis of 96% ethanol extract of black cumin seeds (BCS) and bitter herbs (BH) combination on ovalbumin-induced rats.

Animal tests were grouped into 10 groups (@4 rats). Group I-II were treated with BSC or BH only. Group III-VII were treated orally with the combination BCS:BH. Group VIII by 0,5% of CMC-Na orally, Group IX was treated sub-cutaneously by 2% of cromolin -Na, and well as the normal group (X). The treatment of extract were given through of the research. Group of I-X were sensitized subcutaneously twice (1x per week) in the back of the rats by ovalbumin. At the second week of testing, all animals were injected intravenously by 1,5% of Evans blue. For supporting the pharmacological data, the histopathology the skin tissue by toluidine blue staining, was done. The data obtain was analyzed statistically.

The results of statistical tests cromolyn sodium group, extracts of black cumin and bitter dose of 30 mg, 120 mg; (15:60) mg; (22,5:30) mg; (7,5:90) mg; (7,5:60) mg; (22,5:90) mg / kg body weight resulted in a significant difference to the negative control, and produce the percent inhibition of active cutaneous anaphylaxis respectively  $14.30 \pm 6.15 *$ ;  $11.79 \pm 5.74 *$ ;  $34.81 \pm 4.85 *$ ;  $27.02 \pm 4.66 *$ ;  $21.05 \pm 5.84 *$ ;  $23.84 \pm 4.73 *$ ;  $38.52 \pm 4.71 *$ , these results are supported by observations of histopathological tissue showed a very strong correlation between the number of intact mast cells with active cutaneous anaphylaxis percent inhibition.

---

Keywords: *Nigella sativa* L. *Andrographis paniculata* N., active cutaneous anaphylaxis, ovalbumin, mast cells.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A.Latar Belakang**

Anafilaksis kutan aktif adalah manifestasi penyakit alergi pada jaringan kulit akibat meningkatnya reaktivitas atau sensitivitas terhadap antigen yang pernah dipajankan atau dikenal sebelumnya, diperantarai oleh IgE dan ditandai dengan rasa gatal, terbakar dan kemerahan dengan benjolan eritema di daerah yang tersensitisasi.

Reaksi anafilaksis kutan aktif adalah metode yang dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi dari suatu senyawa uji (Ediati, *et al.*, 2007). Reaksi anafilaksis disebabkan oleh pelepasan mediator inflamasi dan sitokinesis dari sel mast dan basofil. Pelepasan ini biasanya merupakan suatu reaksi sistem imun, tetapi dapat juga disebabkan kerusakan pada sel-sel yang tidak berkaitan dengan reaksi imun. Anafilaksis disebabkan oleh respons imun, imunoglobulin E (IgE) berikatan dengan materi asing yang menyebabkan reaksi alergi (antigen). Kombinasi antara IgE yang berikatan dengan antigen mengaktifkan reseptor FcεRI pada sel mast dan basofil. Sel mast dan basofil bereaksi dengan melepaskan mediator inflamasi seperti histamin. Mediator ini meningkatkan kontraksi otot polos bronkus, menyebabkan pelebaran pembuluh darah (vasodilatasi), meningkatkan kebocoran cairan dari dinding pembuluh darah, dan menekan kerja otot jantung. Anafilaksis yang tidak disebabkan oleh respons imun, disebabkan oleh adanya faktor yang secara langsung merusak sel mast dan basofil, sehingga

keduanya melepaskan histamin dan senyawa lain yang biasanya berkaitan dengan reaksi alergi (degranulasi). Faktor yang dapat merusak sel ini di antaranya zat kontras untuk sinar-x, opioid, suhu (panas atau dingin), dan getaran (Khan, *et al.*, 2011).

Ciri reaksi hipersensitivitas tipe I adalah dilepaskannya berbagai mediator oleh sel mastosit dan basofil, sebagai akibat dari rangsangan alergen yang terikat pada immunoglobulin E (IgE) yang terdapat pada permukaan sel tersebut. Granula sekretorik sel basofil dan sel mastosit mengandung mediator baik yang ada sebelumnya (*preformed*) misalnya histamin, *serine protease*, heparin, maupun yang baru dibentuk sebagai respon terhadap rangsangan misalnya prostaglandin (PGD<sub>2</sub>), leukotrien, *platelet activating factor* (PAF) dan berbagai jenis sitokin. Mediator-mediator ini menarik sel-sel inflamasi lain sehingga menimbulkan manifestasi klinik alergi seperti peningkatan permeabilitas vaskuler yang berakibat edema (Kresno, 2010).

Pelepasan mediator oleh mastosit atau basofil pada umumnya melibatkan antibodi IgE dan antigen penyebab alergi yang disebut alergen. Reaksi ini merupakan bentuk penyimpangan respon imun humoral. Mediator aktif yang dibebaskan dari sel basofil dan mastosit ini menyebabkan berbagai gejala alergi seperti mata merah, urtikaria, rhinitis dan asma bronkial (Andreanus *et al.*, 2003).

Antigen yang membangkitkan reaksi hipersensitivitas adalah protein atau zat kimia yang terikat protein. Pemberian ovalbumin pada penelitian ini untuk meningkatkan jumlah persentase sel mast yang terdegranulasi. Ovalbumin merupakan bahan yang dapat merangsang pembentukan respon imun ke arah Th2

dominan dan merupakan salah satu alergen yang bertanggung jawab terhadap terjadinya reaksi hipersensitivitas tipe I. Pemaparan ulang yang kedua dengan pemberian ovalbumin sebagai pembangkit reaksi anafilaksis, mengakibatkan hewan uji yang disensitisasi mengalami *hyperresponsiveness* pada kulit yang disensitisasi.

Penggunaan obat alami yang berasal dari tanaman atau herbal pada saat ini semakin meningkat, karena toleransi yang lebih baik dan minimalnya efek samping obat dibandingkan dengan obat sintetik (Raharjo *et al.*, 2009). Tanaman obat lebih sering digunakan dalam bentuk kombinasi daripada dalam bentuk tunggal untuk mendapatkan manfaat yang maksimal (Manvi *et al.*, 2011).

Biji jintan hitam dan herba sambiloto sudah lama digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan berbagai macam penyakit. Biji jintan hitam dengan kandungan thymoquinon, ditymoquinon, dan saponin berkhasiat sebagai anti tumor, dengan menghambat aktivitas enzim siklooksigenase dan enzim lipooksigenase sehingga juga memiliki khasiat antiinflamasi yang sangat poten. Lipooksigenase dapat mengkatalisis pembentukan leukotrien dari asam arakhidonat yang berfungsi sebagai mediator alergi dan peradangan. Siklooksigenase adalah enzim yang pertama dalam metabolisme yang dihasilkan dari asam arakhidat yang akhirnya menghasilkan prostaglandin (salah satu mediator peradangan) dan trombosit (Mangan, 2003). Biji jintan hitam memiliki kandungan kimia *fixed oil* berupa asam-asam lemak tidak jenuh, misalnya asam linoleat, asam oleat, asam palmitat, asam stearat, asam laurat, asam miristat, serta asam linolenat (Nickavara *et al.*, 2003). Asam linoleat dapat menurunkan

metabolisme asam arakhidonat. Asam linoleat yang terkandung dalam jintan hitam mempunyai efek antialergi, dengan kemampuannya antara lain menurunkan TNF yang merupakan sitokin pro-inflamasi, penurunan produksi histamin sehingga mencegah proses inflamasi lebih lanjut dan penurunan pembentukan IgE, sehingga menghambat terjadinya degranulasi sel mast (Leah *et al.*, 2001). Timokuinon yang terkandung dalam biji jintan hitam memiliki efek antiinflamasi, dengan mekanisme antara lain menurunkan sitokin Th2 yaitu IL-4, IL-5 dan IL-13; *lung eosinophilia*; lipoksigenase serta siklooksigenase; serum IgE; menghambat influks Ca<sup>2+</sup> sehingga dapat mencegah degranulasi sel mast serta menurunkan TNF (Mezayen, *et al.*, 2006). Nigellon yang diisolasi dari minyak jintan hitam menghambat pelepasan histamin dari sel penyangga tikus, berdasarkan penurunan konsentrasi kalsium intraselluler. Kalsium berguna untuk fungsi fosfolipase A2 essential, enzim tersebut memecah asam arakhidat dari pembentukan fosfolipid yang juga terjadi pada metabolisme prostaglandin (Chakravarty, 1993).

Daun sambiloto dengan zat aktif andrografolid memiliki aktivitas sebagai antihistamin dan antiinflamasi (Raharjo *et al.*, 2009; Radhika *et al.*, 2009), hal ini diperkuat dengan penelitian mengenai efek andrografolid yang secara signifikan mampu menurunkan jumlah *Eosinophil Granulocytes* sebagai salah satu mediator inflamasi dalam cairan bronkoalveolar serta mengurangi ekspresi IL-5 pada mencit Balb/C yang diinduksi ovalbumin (Hua *et al.*, 2012).

Sambiloto dengan kandungan 14-deoksi-11,12-didehydroandrographolide mempunyai efek menghambat aktivasi NF-kB pada peradangan alergi saluran

pernafasan dan secara signifikan ( $p < 0,05$ ) menurunkan IL-4, IL-5, dan IL-13 pada tikus yang diinduksi OVA (Shou, *et al.*, 2011)

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan bahan baku obat tradisional yang berpotensi sebagai antialergi, khususnya yang mempunyai efek menghambat terjadinya degranulasi sel mast. Biji jintan hitam dan herba sambiloto mempunyai kandungan zat aktif yang berkhasiat untuk menghambat pelepasan histamin dan mempunyai aktifitas antiinflamasi, jadi bila kedua tanaman tersebut dikombinasikan diharap dapat menghasilkan efek yang lebih kuat dibandingkan dengan pemberian dosis tunggalnya, selain itu penurunan dosis pada pemberian kombinasi dari masing-masing tanaman, dapat menghindari terjadinya toksisitas bila digunakan dalam jangka panjang.

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan permasalahan:

1. Apakah kombinasi ekstrak biji jintan hitam dan herba sambiloto mempunyai efek penghambatan reaksi anafilaksis kutan aktif ?
2. Apakah kombinasi ekstrak biji jintan hitam dan herba sambiloto mampu menstabilkan sel mast pada tikus yang diinduksi ovalbumin?
3. Apakah ada korelasi antara jumlah sel mast utuh dengan persen penghambatan anafilaksis kutan aktif ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui efek penghambatan reaksi anafilaksis kutan aktif kombinasi ekstrak biji jintan hitam dan herba sambiloto.
2. Mengetahui efek pemberian ekstrak biji jintan hitam dan herba sambiloto dalam menstabilkan sel mast pada tikus yang diinduksi ovalbumin.
3. Mengetahui adanya korelasi antara jumlah sel mast utuh dengan persen penghambatan anafilaksis kutan aktif.

### **D. Kegunaan Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi landasan ilmiah bagi pengguna obat tradisional dan merupakan salah satu bahan baku obat non sintesis yang berpotensi mempunyai efek menghambat anafilaksis kutan aktif. Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi bagi masyarakat umum dan bagi industri farmasi dengan menyertakan bukti-bukti ilmiah mengenai efek penghambatan anafilaksis kutan aktif kombinasi biji jintan hitam dan herba sambiloto.

### **E. Keaslian Penelitian**

Berbagai penelitian tentang aktivitas biji jintan hitam dan herba sambiloto sebagai antialergi dan imunomodulator telah banyak dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Di antara penelitian tersebut adalah :



1. Pengaruh pemberian tunggal dan kombinasi ekstrak etanol 95% herba sambiloto, biji jintan hitam dan rimpang jahe sebagai antiasma pada mencit balb/c dengan parameter hitung granul sel mast (Kadu, 2013).
2. Pengaruh pemberian tunggal dan kombinasi ekstrak etanol 95% herba sambiloto, biji jintan hitam dan rimpang jahe sebagai antiasma pada mencit balb/c dengan parameter hitung neutrofil darah tepi (Thermyn, 2013).
3. Efek infusa herba sambiloto (*Andrographidis* herba) sebagai antialergi terhadap dermatitis alergika pada hewan coba mencit (Apriani, 2006).
4. Efek imunomodulator ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dengan parameter fagositosis makrofag pada mencit balb/C (Iqbal, 2010).
5. Efek imunomodulator ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dengan parameter imunoglobulin G pada mencit Balb/C (Kristi, 2010).

Namun penelitian mengenai uji efek penghambatan anafilaksis kutan aktif kombinasi ekstrak etanol 96% biji jintan hitam dan herba sambiloto pada tikus yang diinduksi ovalbumin belum pernah dilakukan.

Penelitian ini merupakan kelanjutan dari penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya yaitu hipersensitivitas tipe I pada asma dengan pemberian dosis tunggal dan kombinasi herba sambiloto, biji jintan hitam serta untuk membandingkan efek dari pemberian dosis tunggal dan kombinasi tanaman dengan parameter hitung jumlah granul sel mast pada bronkus mencit Balb/C. melalui penelitian *in vivo*.