

**AKTIVITAS PENGHAMBATAN REAKSI ANAFILAKSIS KOMBINASI
EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN HERBA
MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.) PADA TIKUS
YANG DIINDUKSI OVALBUMIN**

TESIS

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

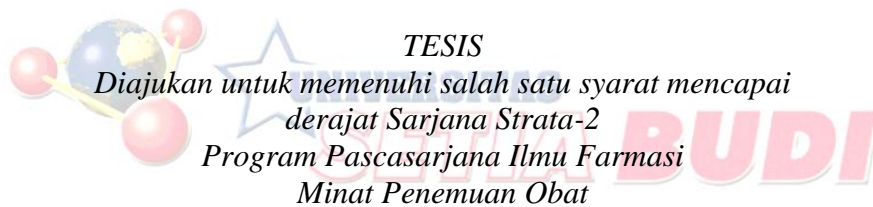


Oleh :

**Hastuti MS.
SBF 031210028**

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

**AKTIVITAS PENGHAMBATAN REAKSI ANAFILAKSIS KOMBINASI
EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN HERBA
MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.) PADA TIKUS YANG
DIINDUKSI OVALBUMIN**



Oleh :

**Hastuti MS.
SBF 031210028**

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

PENGESAHAN TESIS

berjudul

**AKTIVITAS PENGHAMBATAN REAKSI ANAFILAKSIS KOMBINASI
EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN HERBA
MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.) PADA TIKUS YANG
DIINDUKSI OVALBUMIN**

Oleh :

**Hastuti MS.
SBF 031210028**

Dipertahankan di hadapan Dewan Penguji Tesis
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal: 12 April 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.
3. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si, Apt.
4. Prof. Dr. Ediati Sasmito, SE, Apt.

1.

2.

3.

4.

HALAMAN PERSEMBAHAN



Allahumma sholli ‘ala Muhammad wa ali Muhammad

“Ilmu lebih berharga daripada harta, ilmu akan menjaga engkau, dan engkau menjaga harta. Ilmu itu penghukum, sedangkan harta terhukum.

Harta akan berkurang bila dibelanjakan, tetapi ilmu akan bertambah jika dibelanjakan”

(Imam Ali Bin Abi Thalib as.)

“Allah meninggikan orang yang beriman diantara kamu, dan orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat”

(Q.S. Al-Mujaadalah: 11)

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya, ia mendapat pahala dari kebajikan yang diusahakannya, dan ia mendapat siksa dari kejahatan yang dikerjakannya”

(Q.S Al-Baqarah: 286)

“Hidup hanya sekali, manfaatkan sehatmu, sebelum datang sakitmu, manfaatkan masa mudamu sebelum datang uzurmu, manfaatkan waktumu sebaik-baiknya sebelum ajal menjemputmu”

Dengan segenap syukur dan terimakasih kupersembahkan kepada:

Allah SWT., segala puji bagi-Nya atas segala rahmat dan karunia-Nya yang senantiasa diberikan kepada hamba-Nya, dan Sholawat dan Salam kepada Rasulullah Muhammad SAW. beserta Ahlul Baitnya.

Seluruh keluarga tercinta, terimakasih atas segala doa, bantuan, dan motifasinya.

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, April 2014

Hastuti MS.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah robbil'alamin atas segala berkat, rahmat, dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan judul “AKTIVITAS PENGHAMBATAN REAKSI ANAFILAKSIS KOMBINASI EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN HERBA MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI OVALBUMIN”. Penyusunan tesis ini bertujuan untuk memenuhi syarat memperoleh gelar Magister Sains (M.Si) pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Tesis ini dapat diselesaikan berkat bantuan, bimbingan dan arahan yang tulus dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan dengan segala hormat dan terimakasih 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 W., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah banyak membantu dalam memberikan masukan dan bimbingan dalam menyelesaikan tesis ini.
5. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt., selaku penguji pertama, atas ketulusannya dalam memberikan arahan, masukan, dan saran dalam penyusunan tesis ini.
6. Dr. Arief Nurrochmad, M.Si., M.Sc., Apt., selaku penguji kedua, atas kesiapannya dalam memberikan ujian dan masukan dalam penyusunan tesis ini.
7. Dosen, asisten dosen dan staf di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
8. Pembimbing dan asisten pendamping di Laboratorium Biologi Sel dan Histologi, Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta.

9. Asisten pembimbing di Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
10. Asisten pembimbing di Laboratorium Fitokimia UNS, Surakarta.
11. Seluruh keluarga tercinta yang selalu memberikan dukungan dan doanya.
12. Seluruh teman-teman peneliti, Dian Arsanti Palupi, S.Si, M.Si, Apt., Dr. Hasnaeni M.Sc, Apt., Wiwik Lestari, S.Farm., Arisma Nuri Pebryana, S.Farm., Yeli Trimayanti, S.Farm., Matias Natalis S.Farm, M.Si, Apt., Elisabeth Oriana Jawa La, S.Farm, M.Si, Apt., Shela Puji Dina, S.Farm, M.Si, Apt., Citra Dewi, S.Farm, M.Si, Apt., Wahyuni Wanudi S.Farm, M.Si, Apt., Hartati, S.Farm, M.Si, Apt., Silviana Hasanuddin S.Farm, M.Si, Apt., Lailatul Ukhdiah Syarifudin S.Farm, M.Si, Apt., dan Yulius Korasa, S.Farm, M.Si., Apt., atas segala bantuan dan kerjasamanya selama penyusunan tesis ini.
13. Semua pihak yang telah membantu sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu saran dan kritik sangat penulis harapkan. Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi masyarakat dan dunia pendidikan.

Surakarta, April 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	6
E. Keaslian Penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. <i>Nigella sativa</i> L.	9
B. <i>Phyllanthus niruri</i> L.	12
C. Inflamasi	15
D. Anafilaksis.....	16
E. Sel Mast.....	21
F. Ekstraksi dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	23
G. Flavonoid, Terpenoid, Alkaloid, Tanin, dan Saponin.....	25
1. Flavonoid.....	25
2. Terpenoid.....	26

3. Alkaloid	26
4. Tanin	27
5. Saponin	27
H. Histopatologi	27
I. Landasan Teori	31
J. Hipotesis	33
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Populasi dan Sampel	35
B. Variabel Penelitian	35
1. Identifikasi variabel utama	35
2. Klasifikasi variabel utama	35
C. Definisi Operasional Variabel Utama	36
D. Bahan, Alat, dan Hewan Uji	37
1. Bahan	37
2. Alat	38
3. Hewan uji	38
E. Jalannya Penelitian	38
1. Identifikasi Serbuk Simplisia	38
1.1. Uji mikroskopik	38
1.2. Uji makroskopik,	39
1.3. Uji susut pengeringan	39
2. Pembuatan Ekstrak	39
3. Identifikasi Kandungan Kimia	40
3.1. Identifikasi Flavonoid	40
3.2. Identifikasi Terpenoid	40
3.3. Identifikasi Alkaloid	40
3.4. Identifikasi Tanin	41
3.5. Identifikasi saponin.	41
4. Penetapan Dosis	41
5. Pembuatan Larutan	41
6. Uji Aktivitas Penghambatan Reaksi Anafilaksis	43

7. Pengamatan Diameter Area Pigmentasi	44
8. Pembuatan Preparat Dan Pengamatan Histopatologi	44
9. Analisis Hasil	46
9.1. Data kuantitatif	47
9.2. Data semi kuantitatif.....	48
9.3. Uji statistik parametrik	48
9.4. Uji statistik korelasi	48
F. Prosedur Penelitian.....	49
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Identifikasi Serbuk Simplisia	53
1. Uji mikroskopik.....	53
2. Uji makroskopik	54
3. Uji susut pengeringan	54
B. Pembuatan Ekstrak.....	55
C. Identifikasi Kandungan Kimia	56
D. Uji Aktivitas Penghambatan Reaksi Anafilaksis secara <i>In Vivo</i>	57
E. Gambaran Histopatologi Jaringan Terinflamasi	64
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	72
B. Saran.....	72
BAB VI RINGKASAN.....	73
DAFTAR PUSTAKA	78
LAMPIRAN.....	87

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Mekanisme terjadinya reaksi anafilaksis.....	18
Gambar 2. Sel mast jaringan ikat	23
Gambar 3. Sel mast.	31
Gambar 4. Skema kerja identifikasi dan pembuatan ekstrak	49
Gambar 5. Skema kerja aktivitas penghambatan reaksi anafilaksis	50
Gambar 6. Skema kerja histopatologi sel mast jaringan kulit.....	51
Gambar 7. Hasil identifikasi mikroskopik serbuk biji jintan hitam.	53
Gambar 8. Hasil identifikasi mikroskopik serbuk herba meniran.....	53
Gambar 9. Kurva rata-rata luas area pigmentasi vs waktu.....	60
Gambar 10. Persen penghambatan anafilaksis.....	64
Gambar 11. Gambaran histopatologi sel mast	67
Gambar 12. Kurva korelasi	70

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Hasil uji organoleptik.....	54
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan	55
Tabel 3. Rendemen ekstrak	56
Tabel 4. Hasil identifikasi kandungan kimia.....	57
Tabel 5. Potensi penghambatan kombinasi ekstrak	62
Tabel 6. Persentase penghambatan degranulasi sel mast	65
Tabel 7. Korelasi penghambatan degranulasi sel mast dengan anafilaksis.....	69
Tabel 8. Hasil uji korelasi <i>Spearman</i>	70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Hasil uji determinasi	87
Lampiran 2. Foto serbuk simplisia dan ekstrak	88
Lampiran 3. Foto hewan uji tikus	88
Lampiran 4. Foto pemberian oral tikus	89
Lampiran 5. Foto pemberian subkutan dan intravena tikus	89
Lampiran 6. Foto area pigmentasi pada punggung tikus	89
Lampiran 7. Foto sediaan uji.....	90
Lampiran 8. Foto jaringan kulit tikus.....	90
Lampiran 9. Foto blok parafin	90
Lampiran 10. Foto preparat.....	91
Lampiran 11. Foto alat mikrotom putar	91
Lampiran 12. Foto alat Optilab	91
Lampiran 13. Penetapan susut pengeringan.....	92
Lampiran 14. Perhitungan rendemen ekstrak.....	92
Lampiran 15. Hasil identifikasi kimia serbuk	93
Lampiran 16. Hasil identifikasi kimia ekstrak	94
Lampiran 17. Jumlah bahan dan perlakuan hewan uji.....	94
Lampiran 18. Data hasil pengukuran luas area pigmentasi.....	95
Lampiran 19. Data luas area pigmentasi	97
Lampiran 20. Data AUC_{0-8}	99
Lampiran 21. Persentase penghambatan anafilaksis.....	101
Lampiran 22. Uji ANOVA satu jalan data AUC_{0-8}	102
Lampiran 23. Uji statistik korelasi	108

DAFTAR SINGKATAN

5-HT	: <i>5-hydroxytryptamine</i>
ANOVA	: <i>Analisis of Varian</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cells</i>
AUC	: <i>Area Under Curve</i>
BMMCs	: <i>Bone Marrow Derived Mast Cells</i>
cAMP	: <i>c Adenosin Monophosphat</i>
CD	: <i>Cluster of Differentiation</i>
cGMP	: <i>c Granulocyte Monophosphat</i>
C3a	: <i>Complement C3</i>
C5a	: <i>Complement C5</i>
ECM	: <i>Expressed On Mast Cells</i>
FcεR1	: <i>Fragmen crystallizable epsilon Receptor (IgE)</i>
HMC-1	: <i>Human Mast Cell Line-1</i>
IC ₅₀	: <i>Inhibition Contentration -50</i>
IgE	: <i>Imunoglobulin E</i>
IKKα	: <i>Iκα kinase</i>
IKKβ	: <i>Iκβ kinase</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
ITAMs	: <i>Immunoreceptor Tyrosine-Based Activation Motifs</i>
IκB	: <i>Inhibitor of NF-κβ</i>
JAK	: <i>Janus tyrosine kinases</i>
kDa	: <i>kilodalton</i>
LAB	: <i>Linker For Activation Of β Cells</i>
LAT	: <i>Linker For Activation Of T Cells</i>
LD ₅₀	: <i>Lethal Dose-50</i>
LSD	: <i>Least Significant Difference</i>
LT	: <i>Leukotrin</i>
MHC	: <i>Mayor Histocompatibility Complex</i>
Na-CMC	: <i>Natrium Carboxy-Methil-Cellulose</i>

NF- κ B	: <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>
PLC γ 1	: <i>Phospholipase C γ1</i>
S1P	: <i>Sphingosine-1-Phosphate</i>
SCF	: <i>Stem Cell Factor</i>
SD	: <i>Standard Deviation</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SRS-A	: <i>Slow Reacting Substance A</i>
STIM1	: <i>Stromal Interaction Molecule 1</i>
Syk	: <i>Spleen tyrosine kinase</i>
TCR	: <i>T cell receptor</i>
TGF	: <i>Transforming Growth Factor</i>
Th2	: <i>T helper</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TRAPs	: <i>Transmembrane Adaptor Proteins</i>

INTISARI

HASTUTI MS, 2014, AKTIVITAS PENGHAMBATAN REAKSI ANAFILAKSIS KOMBINASI EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN HERBA MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI OVALBUMIN, TESIS, FAKULTAS ILMU FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Pengembangan pengobatan kombinasi obat herbal terus dilakukan. Kombinasi herbal diharapkan dapat meningkatkan potensi pengobatan dengan efek samping lebih sedikit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek penghambatan reaksi anafilaksis kombinasi ekstrak etanol biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dan ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.), pada tikus yang diinduksi ovalbumin.

Penelitian ini menggunakan metode anafilaksis kutan aktif yang didukung uji histopatologi. Tikus disensitisasi dua kali dengan ovalbumin untuk menginduksi reaksi anafilaksis, dan dengan pewarna *evans blue*, diukur diameter area pigmentasi punggung tikus. Pengamatan histopatologi menggunakan *toluidin blue*, sehingga pada mikroskop, sel mast tampak sebagai granul berwarna ungu. Uji dengan metode anafilaksis kutan aktif menggunakan 11 kelompok uji, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok kontrol normal, 2 kelompok dosis tunggal, dan 6 kelompok variasi dosis kombinasi. Data statistik yang diperoleh dianalisis dengan uji ANOVA.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol biji jintan hitam dan herba meniran dengan berbagai dosis kombinasi, mampu menghambat aktivitas reaksi anafilaksis pada tikus. Dosis kombinasi ekstrak biji jintan hitam: herba meniran, 15:40,5 mg/kg bb (50%:50%), 22,5:20,25 mg/kg bb (75%:25%), 7,5:60,75 mg/kg bb (25%:75%), 7,5:40,5 mg/kg bb (25%:50%), 7,5:20,25 mg/kg bb (25%:25%), dan 22,5:60,75 mg/kg bb (75%:75%) memberikan % penghambatan reaksi anafilaksis berturut-turut sebesar 20,56±4,00; 27,68±5,31; 16,19±4,79; 19,51±5,01; 8,66±2,29 dan 17,16±3,04. Berdasarkan pengamatan histopatologi, kombinasi ekstrak etanol biji jintan hitam dan herba meniran menghambat degranulasi sel mast, dan memberikan korelasi kuat, searah dan bermakna dengan penghambatan anafilaksis kutan aktif.

Kata kunci: *Nigella sativa* L., *Phyllanthus niruri* L., anafilaksis, sel mast, ovalbumin

ABSTRACT

HASTUTI MS, 2014, INHIBITION ACTIVITY OF ANAPHYLAXIS REACTIONS FROM EXTRACT COMBINATION BLACK CUMIN (*Nigella sativa* L.) SEEDS AND MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.) HERBS IN OVALBUMIN INDUCED RATS. THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Development of herbal drug combination treatment is continuously done. The combination is expected to increase the potency of herbal medicine with fewer side effects. This study aims to determine the inhibition effect of anaphylaxis reactions from combination of ethanol extract of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds and ethanol extract meniran (*Phyllanthus niruri* L.) herbs, in the ovalbumin-induced rats.

This study used an active cutaneous anaphylaxis method with supported histopathology test. Rats were sensitized twice with ovalbumin to induce anaphylaxis reactions, and with evans blue dye to be able measure the diameter of pigmentation on rat backbone. Histopathological observation conduct by toluidine blue, to show the mast cells appear as purple granules on microscopic view. Identification active cutaneous anaphylaxis method used 11 test group, which are the negative control group, the positive control group, the normal control group, 2 a single dose group, and the dosage combination in 6 groups. Data obtained were analysed by ANOVA statistic.

The results showed that the combination ethanol ekstrak of black cumin seeds and meniran herbs with various doses of the combination, capable of inhibiting the activity of an anaphylaxis reaction in rats. Dose combination of black cumin seed extract: meniran herbs, 15:40.5 mg/kg bw (50%:50%), 22.5:20.25 mg/kg bw (75%:25%), 7.5:60.75 mg/kg bw (25%:75%), 7.5:40.5 mg/kg bw (25%:50%), 7.5:20.25 mg/kg bw (25%:25%), and 22.5:60.75 mg/kg bw (75%:75%) giving % inhibition anaphylaxis reactions, 20.56±4.00; 27.68±5.31; 16.19±4.79; 19.51±5.01; 8.66±2.29 and 17.16±3.04 respectively. Based on histopathological observations, the combination ethanol ekstrak of black cumin seeds and meniran herbs inhibition was degranulation of mast cell, and provide a strong correlation, the direction and meaning to the inhibition of active cutaneous anaphylaxis.

Keywords : *Nigella sativa* L., *Phyllanthus niruri* L., anaphylaxis, mast cells, ovalbumin

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Anafilaksis dapat menyerang siapa saja walaupun tidak memiliki riwayat penyakit alergi. Penyakit ini dicirikan sebagai vasodilatasi besar-besaran termasuk gatal, udem, memerahnya kulit dan gangguan pencernaan (Zdanowicz, 2003) yang jika terlambat ditangani dapat menyebabkan kematian (Brown *et al.*, 2006). Selain riwayat keluarga, anafilaksis juga bisa disebabkan adanya reaksi berlebihan sistem imun terhadap makanan yang bersifat antigenik, seperti susu, gandum, kacang-kacangan, telur, ikan, udang, kepiting dan makanan lain pemicu alergi (Barzegar *et al.*, 2010), mengakibatkan pertahanan tubuh bereaksi tak terkendali, sel mast teraktivasi melepaskan granula-granula histamin dan mediator kimia lain menimbulkan peradangan.

Manifestasi klinik alergi dan reaksi anafilaksis dihasilkan oleh pelepasan mediator kimia dari jaringan sel mast dan sirkulasi leukosit basofil. Mediator ini salah satunya dibentuk dan disimpan dalam sel dengan karakteristik mengeluarkan granula-granula (histamin, neutrofil, dan faktor eosinofil kemotaktik, heparin, atau terkait hidrolisis glikosaminoglikan) atau dihasilkan oleh metabolisme oksidatif komponen membran turunan lipid (leukotrien, prostaglandin, dan tromboksan) (Pearce, 1985).

Sitokin yang diproduksi oleh sel mast TNF, IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, dan kemokin berperan penting pada reaksi hipersensitivitas tipe I melalui

kemampuannya merekrut dan mengaktifasi berbagai macam sel radang. TNF merupakan mediator yang sangat poten dalam adhesi, emigrasi, dan aktivitas leukosit. IL-4 juga merupakan faktor pertumbuhan sel mast dan diperlukan untuk mengendalikan sintesis IgE oleh sel B (Fikri, 2012).

Sel mast memiliki fungsi utama sebagai efektor imunoglobulin E yang dimediasi penyakit inflamasi alergi (Baba *et al.*, 2008) dengan produk utama adalah histamin (Hofstra *et al.*, 2003). Stimulasi alergen menginduksi masuknya Ca^{2+} dan memunculkan sekresi mediator inflamasi dari sel mast. Agregasi reseptor afinitas tinggi IgE ($\text{Fc}\epsilon\text{RI}$) pada sel mast adalah stimulus ampuh degranulasi melepaskan mediator inflamasi dan alergi dari butiran sitoplasma (Nishida *et al.*, 2005). Proses degranulasi tergantung pada peningkatan penyimpanan konsentrasi Ca^{2+} intraselluler dan dari influks Ca^{2+} ekstraselluler melalui saluran membran plasma. Pelepasan Ca^{2+} dari retikulum edoplasma dimediasi oleh jalur sinyal $\text{PLC}\gamma$. Sensor molekuler pengosongan kalsium pada membran retikulum endoplasma adalah STIM1 , dan terkait saluran kalsium membran plasma, sebagai ORAI1 . Saluran STIM-ORAI adalah mekanisme molekuler yang mendasari SOCE yang merupakan influks cepat Ca^{2+} dari ECM setelah pengosongan Ca^{2+} intraseluler dari retikulum endoplasma (Tshori & Razin, 2010). Aktivasi sinyal reseptor IgE oleh antigen yang membentuk ikatan silang, memulai kompleks mobilisasi Ca^{2+} sebagai gelombang cepat diikuti serangkaian osilasi Ca^{2+} yang bergantung pada rangkaian retikulum endoplasma luminal Ca^{2+} sensor STIM1 untuk kalsium teraktivasi melepaskan saluran protein kalsium ORAI 1 (Holowka *et al.*, 2012).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa obat yang dikombinasikan dengan obat lain ternyata lebih poten dalam memberikan efek terapi dibandingkan dalam menggunakan tunggal. Dalam penelitian ini digunakan dua jenis tanaman yang berpotensi untuk digunakan sebagai imunomodulator, sehingga mampu menghambat aktivitas reaksi anafilaksis. Tanaman tersebut adalah biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dan herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.).

Ekstrak jintan hitam dengan kandungan *Nigellon* sebagai salah satu polimer karbonil *thymoquinon* pada minyak atsiri, menurunkan sitokin-sitokin hasil produksi Th2 yaitu IL-4, IL-5, IL-13 dan IgE serum yang menyebabkan pencegahan degranulasi sel mast, serta menurunkan TNF pada inflamasi, sehingga pemberian minyak biji jintan hitam mampu menurunkan tingkat infiltrasi sel-sel radang (Subiyanto & Diding, 2008) melalui penurunan kadar kalsium (Ca^{2+}) intrasel (Gazzar *et al.*, 2006; Chakravarty, 1993, diacu dalam Sari, 2012). Peningkatan kadar kalsium, akan melepaskan ikatan kalsium pada membran menyebabkan terbukanya membran plasma menimbulkan degranulasi sel mast melepaskan mediator nyeri (White & Pearce, 1981). Aktivasi sel mast membuka pintu yang diperantarai reseptor atau saluran dalam membran plasma, dimana kalsium dalam sel melibatkan kombinasi ion dengan reseptor membran spesifik (Pearce, 1985).

Ekstrak herba meniran dengan kandungan flavonoid khususnya *quercitrin*, mampu menghambat sintesis histamin dan prostaglandin yang merupakan mediator utama reaksi peradangan (Christever, 2003), dengan cara *quercitrin* melepaskan quercetin dalam memberikan efek antiinflamasi melalui

penghambatan jalur NF- κ B (Comalada *et al.*, 2005). NF- κ B merupakan famili faktor transkripsi sebagai regulator penting respon imun dan inflamasi. NF- κ B terlibat dalam perlindungan sel yang mengalami apoptosis dalam menanggapi kerusakan DNA atau pengobatan sitokin. Stimulasi dari jalur NF- κ B dimediasi oleh beragam produk transduksi sinyal. Sinyal ini mengaktifkan I κ B kinase, IKK α dan IKK β , yang memfosforilasi penghambatan protein yang dikenal sebagai I κ B menghasilkan *ubiquitinasi* dan degradasi oleh proteasome. Degradasi I κ B menghasilkan translokasi NF- κ B dari sitoplasma ke inti mengaktifkan ekspresi gen seluler tertentu dengan meningkatkan ekspresi gen. Ini termasuk gen pengkodean setidaknya 27 jenis sitokin berbeda dan kemokin, reseptor terlibat dalam sistem imun seperti anggota MHC, protein yang terlibat dalam presentasi antigen, dan reseptor yang diperlukan untuk adhesi neutrofil dan migrasi. Sitokin yang dirangsang oleh NF- κ B, seperti TNF- α , IL-1 β dan juga langsung dapat mengaktifkan jalur NF- κ B, dengan demikian membentuk loop autoregulatori positif dapat memperkuat respon peradangan dan meningkatkan durasi peradangan kronis (Yamamoto & Gaynor, 2001). Disamping itu, NF- κ B juga menstimulasi ekspresi enzim yang berperan menyebabkan patogenesis proses inflamasi yaitu induksi dari sintesis nitrit oksida (NO) menghasilkan NO, dan induksi siklooksigenasi (COX-2) menghasilkan prostanoid (Lee *et al.*, 2011).

Anafilaksis kutan aktif merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas penghambatan reaksi anafilaksis dari senyawa uji berupa alergi atau inflamasi imunologis, yaitu inflamasi yang terjadi karena adanya reaksi antigen dengan antibodi IgE pada permukaan sel mast

sehingga melepaskan mediator inflamasi (Ikawati dkk., 2007) dengan puncak inflamasi terbesar terjadi antara jam ke-5 sampai jam ke-7 setelah induksi antigen ovalbumin. Metode ini dilakukan dengan mengamati adanya reaksi kutan lokal warna kebiruan apabila disuntikkan secara intravena larutan *evans blue* pada daerah yang disensitisasi (Nugroho dkk., 2007; Ikawati dkk., 2007). Pewarna *evans blue* mengikat protein plasma sehingga tetap berada dalam pembuluh darah, namun ketika terjadi ekstrasvasasi plasma, terutama pada peradangan, *evans blue* juga akan keluar menuju jaringan radang (Emanueli *et al.*, 1998). Metode ini juga dapat didukung dengan uji kualitatif histopatologi, dengan mengamati perubahan yang terjadi pada sel mast (Ediati dkk., 2010; Nugroho dkk., 2007; Ikawati dkk., 2007). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan penjelasan aktivitas penghambatan reaksi anafilaksis kombinasi biji jintan hitam dan herba meniran pada tikus.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas penghambatan anafilaksis kombinasi ekstrak etanol 96% biji jintan hitam dan herba meniran pada kulit punggung tikus yang disensitisasi ovalbumin?
2. Bagaimana aktivitas reaksi penghambatan anafilaksis kombinasi ekstrak etanol 96% biji jintan hitam dan herba meniran pada sel mast jaringan kulit punggung tikus yang disensitisasi ovalbumin?

3. Bagaimana korelasi antara aktivitas penghambatan anafilaksis kombinasi ekstrak etanol 96% biji jintan hitam dan herba meniran pada punggung tikus dengan penghambatan degranulasi sel mast jaringan kulit punggung tikus yang disensitisasi ovalbumin?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas penghambatan anafilaksis kombinasi ekstrak etanol 96% biji jintan hitam dan herba meniran pada kulit punggung tikus yang disensitisasi ovalbumin.
2. Mengetahui aktivitas reaksi penghambatan anafilaksis kombinasi ekstrak etanol 96% biji jintan hitam dan herba meniran pada sel mast jaringan kulit punggung tikus yang disensitisasi ovalbumin.
3. Mengetahui korelasi antara aktivitas penghambatan anafilaksis kombinasi ekstrak etanol 96% biji jintan hitam dan herba meniran pada punggung tikus dengan penghambatan degranulasi sel mast jaringan kulit punggung tikus yang disensitisasi ovalbumin.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat sebagai berikut:

1. Pemanfaatan kombinasi tanaman obat tradisional yang efektif dan efisien sebagai terapi herbal dan terapi pendukung untuk penyembuhan penyakit anafilaksis.

2. Memberikan kontribusi pada dunia kesehatan tentang pemanfaatan kombinasi tanaman tradisional sebagai terapi penunjang dalam mengatasi dan menyembuhkan penyakit anafilaksis.
3. Memberikan informasi umum kepada masyarakat luas dan sumbangan yang berarti dalam ilmu pengetahuan serta dunia farmasi dalam upaya pengembangan kombinasi obat tradisional.

E. Keaslian Penelitian

Beberapa penelitian tentang aktivitas dari senyawa aktif biji jintan hitam dan herba meniran telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Penelitian tersebut diantaranya adalah:

1. Pengaruh pemberian ekstrak minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap organ limfoid sekunder mencit (*Mus musculus*) (Sari, 2012)
2. Pengaruh minyak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap derajat inflamasi saluran nafas (Sjamsudin & Dewoto, 1995)
3. Sifat farmakologi dan toksikologi *Nigella sativa* (Ali & Blunden, 2003)
4. Pengaruh pemberian ekstrak meniran (*Phyllanthus sp.*) terhadap gambaran mikroskop ginjal tikus wistar yang diinduksi karbon tetraklorida (Ardhini, 2006).
5. Pengaruh meniran dari daerah Jombang dalam mengurangi reaksi peradangan secara makroskopis serta menekan jumlah eosinofil dalam darah pada dermatitis alergika dengan hewan coba mencit (Christever, 2003)

6. Aktivitas ekstrak air dan etanol 96% herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap reaksi inflamasi pada mencit galur *Swiss Webster* dengan dermatitis alergika (Eunika, 2009)
7. Uji aktivitas Imunostimulan kombinasi ekstrak etanol 70% meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan jinten hitam (*Nigella sativa* L.) pada tikus putih jantan (Raissa, 2011).

Perbedaan dengan penelitian-penelitian terdahulu adalah penelitian ini merupakan kelanjutan dari penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya yaitu kombinasi biji jintan hitam dan herba meniran dalam uji aktivitas penghambatan anafilaksis melalui pengujian *in vivo* dengan memperbanyak variasi dosis uji dan pengamatan histopatologi untuk melihat adanya perubahan sel mast pada jaringan kulit punggung tikus yang diinduksi ovalbumin.