

**Uji Aktivitas Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap Reaksi Anafilaksis Kutaneus Aktif pada Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Ovalbumin**  
**Activity Test of Extracts of Phyllanthus Herbs (*Phyllanthus niruri* L.) and Black Seeds (*Nigella sativa* L.) to The Active Cutaneous Anaphylactic Reaction in Male Wistar Rats in The Induction of Ovalbumin**

ARISMA NURI PEBRYANA<sup>1</sup>, GUNAWAN PAMUDJI WIDODO\*<sup>1</sup>, YUL MARIYAH<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi

Jln. Letjen Sutoyo-Mojosongo Surakarta-57127 Telp. 0271-852518

<sup>2</sup>Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret

Jln. Ir Sutami No 36-A Ketingan Surakarta 57126 Telp 0271-646994

\* Korespondensi: [gunawanpamudji@yahoo.com](mailto:gunawanpamudji@yahoo.com)

(Diterima 11 Agustus 2014, disetujui 22 Oktober 2014)

---

**ABSTRAK**

Reaksi anafilaksis terjadi akibat paparan ulang alergen yang sama yang dimediasi oleh IgE spesifik yang melekat pada dinding mastosit dan basofil. Pemberian herba meniran dan biji jinten hitam bermanfaat sebagai antiinflamasi dan immunomodulator. Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan efek ekstrak etanol herba meniran dan biji jinten hitam sebagai penghambat anafilaksis kutaneus aktif. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus. Tikus diinduksi alergi dengan pemberian ovalbumin (OVA) 0,1% dan 0,52% dalam Al(OH)<sub>3</sub> 1% secara subkutan. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok yaitu CMC-Na 0,5% (kontrol negatif), natrium kromolin 2 mg/kg BB (kontrol positif), dosis tunggal ekstrak herba meniran 81 mg/kg BB, dosis tunggal ekstrak biji jinten hitam 30 mg/kg BB, dan dosis kombinasi herba meniran dan biji jinten hitam (40,5:15 mg/kg BB). Pada hari ke-21, punggung tikus dicukur 2,5 x 4 cm, diinjeksi Evans blue 1,5%. Data yang diperoleh berasal dari pengukuran diameter area pigmentasi berwarna biru. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok perlakuan berbeda signifikan dengan kontrol negatif dan kelompok kontrol positif ( $p < 0,05$ ). Kombinasi ekstrak etanol herba meniran dan biji jinten hitam memberikan hambatan anafilaksis paling efektif karena kemampuannya menghambat aktivasi sel mast secara adekuat.

**Kata kunci :** *Phyllanthus niruri* L., *Nigella sativa* L., anafilaksis kutaneus aktif, ovalbumin.

---

**ABSTRACT**

Anaphylactic reactions is caused by repeated exposure to the same allergen mediated by specific IgE attached to mast cell and basophils wall. The administration of *Phyllanthus niruri* L. and *Nigella sativa* L. have function as antiinflammation and immunomodulator. The study was purposed to prove the effect of ethanol extract of Phyllanthus herbs and black seeds as inhibitors of active cutaneous anaphylactic. This study used 25 rats. Allergic rats was induced by ovalbumin (OVA) 0,1% and 0,25% in Al(OH)<sub>3</sub> 1% subcutaneously. Rats were divided into 5 groups : CMCNa 0,5% (negative control), sodium cromolyn 2 mg/kg BB (positive control), a single dose of Phyllanthus herbs 81 mg/kg BB, a single dose of black seeds 30 mg/kg BB, the combination dose of Phyllanthus herbs and black seeds (40,5:15 mg/kg BB). On the days 21<sup>th</sup>, backs rats were shaved 2,5 x 4 cm, and it were injected by Evans blue 1,5%. The analyzed data was the blue pigmented areas. The result showed that treatment groups was differed significantly the negative and positive control group ( $p < 0,05$ ). The combination of ethanol extract phyllanthus herbs and black seeds provide the most effective barrier anaphylaxis because it's ability to inhibit the activation of mast cell adequately.

**Keywords :** *Phyllanthus niruri* L., *Nigella sativa* L., active cutaneous anaphylactic, ovalbumin.

---

## PENDAHULUAN

Alergi merupakan reaksi imunologik terhadap antigen secara tidak wajar atau tidak tepat pada seseorang yang sebelumnya pernah tersensitisasi dengan antigen bersangkutan (Kresno 2001). Reaksi hipersensitivitas segera (tipe I) yang sangat parah terjadi pada anafilaksis. Reaksi alergi akut yang mengenai beberapa organ tubuh secara simultan seperti sistem kardiovaskular, respirasi, kulit dan gastrointestinal disebut sebagai reaksi anafilaktik (*ana* yaitu balik, sedangkan *phylaxis* yaitu perlindungan) (Suryono 2001).

Reaksi anafilaksis terjadi akibat pajanan ulang alergen yang sama yang dimediasi oleh IgE spesifik yang melekat pada dinding mastosit dan basofil. Berbagai manifestasi klinik yang muncul dalam reaksi anafilaksis pada umumnya disebabkan oleh pelepasan mediator oleh mastosit atau basofil balik yang timbul segera (dalam beberapa menit) maupun yang timbul belakangan (sesudah beberapa jam) (Suryono 2001).

Antihistamin H1 dan H2 dapat digunakan untuk terapi alergi. Contoh dari antihistamin H1 dan H2 seperti ranitidin, difenhidramin, hidrosizin, siproheptadin (Sukandar *et al.* 2011). Penggunaan obat modern memiliki efek samping lebih besar dibandingkan obat tradisional. Penggunaan obat tradisional mengalami perkembangan yang semakin meningkat, terlebih dengan munculnya isu kembali ke alam (*back to nature*) serta krisis ekonomi berkepanjangan yang menurunkan daya beli masyarakat. (Katno & Pramono 2006). Indonesia

memiliki berbagai macam tanaman yang berpotensi menyembuhkan penyakit alergi contohnya herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan biji jinten hitam (*Nigella sativa* L.).

Meniran dan jinten hitam dilaporkan mempunyai aktivitas imunostimulan. Uji aktivitas imunostimulan kombinasi ekstrak etanol meniran dan jinten hitam pada tikus putih jantan dengan dosis kombinasi ekstrak jinten hitam 7,5 mg/200 g BB dengan ekstrak meniran 6,75 mg/200 g BB menghasilkan aktivitas imunostimulasi yang lebih besar dibandingkan kombinasi dengan dosis yang lain, dan juga menunjukkan respon inflamasi pada pengukuran 4 jam setelah pemberian antigen. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak etanol meniran dan jinten hitam memiliki pengaruh yang lebih besar terhadap reaksi hipersensitif tipe cepat (anafilaksis) daripada tipe lambat (Raissa 2011).

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek kombinasi ekstrak etanol herba meniran dan biji jinten hitam sebagai penghambat anafilaksis kutaneus aktif.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan uji yang digunakan adalah serbuk kering herba meniran dan biji jinten hitam. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar, usia 2 – 3 bulan dengan berat badan  $\pm$  200 g. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 96% (PT. Brataco). Kontrol positif adalah natrium kromolin (Convers<sup>®</sup>/Cendo Pharmaceuticals Industries). Kontrol negatif adalah CMC-Na 0,5%

(E. Merck) dalam phosphate-Buffered Saline (PBS) pH 7,4. Penginduksi ovalbumin (OVA) 0,1% dan 0,52% (Sigma Chemical).  $Al(OH)_3$  1% sebagai adjuvan. Bahan anastesi kloroform (Sigma). NaCl fisiologis (PT. Otsuka Pharmaceutical Indonesia, Surabaya). Evans blue 1,5% sebagai indikator warna untuk menunjukkan adanya anafilaksis kutaneus lokal.

#### **Alat**

Alat-alat yang digunakan adalah *rotary vacuum evaporator* (Buchi R205), lemari pendingin, oven, termometer, timbangan gram, timbangan analitik, alat KLT (Camag®), plat KLT silica gel GF<sub>254</sub>, lampu UV ( $\lambda$  254 dan 366 nm), kandang tikus, spuit injeksi volume 1 dan 3 ml (Terumo), kanula oral tikus, jangka sorong skala 0,01 cm.

#### **Pembuatan Ekstrak Etanol 96%**

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi menggunakan larutan penyari etanol 96%. Masing-masing serbuk simplisia biji jinten hitam dan herba meniran dengan berat 300 mg dimasukkan ke dalam botol kaca berwarna coklat dan ditambahkan larutan penyari etanol 96% sebanyak 3 L (perbandingan antara serbuk simplisia kering dan pelarut adalah 1:10), kemudian didiamkan selama 5 hari dengan melakukan pengadukan setiap hari secara berulang-ulang. Setelah hari ke-5, disaring, kemudian dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* suhu 50°C dengan kecepatan 30 rpm, dilanjutkan diuapkan menggunakan cawan penguap di *waterbath* pada suhu

50°C hingga diperoleh ekstrak dengan konsistensi kental.

#### **Pengujian Aktivitas *In Vivo***

Duapuluh lima ekor tikus jantan galur wistar diadaptasi, kemudian dilakukan sensitisasi. Sensitisasi dilakukan pada hari ke-7 dan hari ke-14 setelah masa adaptasi. Sensitisasi pertama pada hari ke-7 pada punggung tikus disuntikkan ovalbumin 0,1% dalam suspensi  $Al(OH)_3$  1% secara subkutan dengan volume pemberian 1 mL/200 g BB tikus. Pada hari ke-14 atau tujuh hari setelah sensitisasi pertama, tikus disuntikkan kembali dengan ovalbumin 0,1% dalam suspensi  $Al(OH)_3$  1% secara subkutan dengan volume pemberian 1 ml/200 g BB tikus.

Tujuh hari setelah sensitisasi pertama, tikus dicukur punggungnya dengan ukuran 2,5 x 4 cm. Kemudian disuntikkan *Evans blue* secara intravena sebagai indikator warna untuk menunjukkan adanya pembengkakan lokal dan kemerahan pada daerah tersensitisasi. Lima belas menit kemudian diberi perlakuan menurut kelompok masing-masing. Kelompok 1 diberi larutan natrium CMC (kontrol negatif). Kelompok 2 diberi larutan natrium kromolin 2 mg/kg BB dengan volume pemberian 5 ml/kg bb tikus secara subkutan (kontrol positif). Kelompok 3 diberi ekstrak herba meniran dosis 81 mg/kg BB (100%:0%). Kelompok 4 diberi ekstrak biji jinten hitam dosis 30 mg/kg BB (0%:100%). Kelompok 5 diberi ekstrak herba meniran 40,5 mg/kg BB : biji jinten hitam 15 mg/kg BB (50%:50%).

Lima belas menit setelah pemberian larutan uji, dilakukan pembangkitan reaksi anafilaksis kutan aktif pada tikus dengan menyuntikkan 0,52% ovalbumin dalam suspensi  $Al(OH)_3$  1% secara subkutan dengan volume pemberian 5 ml/kg bb tikus.

Pengukuran diameter area pigmentasi (area yang berwarna biru) dilakukan setiap jam selama 8 jam, dimulai satu jam setelah pembangkitan reaksi anafilaksis kutan aktif. Diameter diukur dari 4 sisi yang berbeda lalu dihitung puratanya.

#### **Analisis Data**

Data percobaan berupa diameter area pigmentasi daerah terinflamasi yang kemudian diubah menjadi data luas area pigmentasi, untuk selanjutnya dibuat kurva hubungan antara area pigmentasi terhadap waktu pengamatan (8 jam). Dari kurva tersebut kemudian dihitung luas area pigmentasi dari jam ke-0 hingga ke-8 (luas di bawah kurva individu subjek atau AUC), selanjutnya dibuat rata-rata hasilnya tiap kelompok. Perbedaan hasil AUC antar kelompok dianalisa menggunakan statistika analisa varian (ANOVA) satu jalan dilanjutkan dengan uji LSD.

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Ekstrak etanol 96% herba meniran dan biji jinten hitam diperoleh dengan metode maserasi. Dengan alat *rotary vaccum evaporator* didapatkan ekstrak kental herba meniran berwarna coklat dengan rendemen 11,36%, sedangkan ekstrak kental biji jinten hitam berwarna hitam dengan rendemen 37,05%.

Metode anafilaksis kutaneus aktif dapat digunakan untuk mengamati aktivitas penghambatan reaksi anafilaksis. Dapat dikatakan sebagai reaksi hipersensitifitas tipe 1 karena pada kulit punggung tikus terbentuk inflamasi lokal yang terjadi pada onset cepat selama beberapa jam, puncaknya terjadi pada jam ke 5-7, ciri khasnya terdapat lingkaran berwarna biru oleh *evans blue*. *Evans blue* yang disuntikkan secara intravena pada ekor tikus mengandung albumin telur dapat mengikat protein plasma sehingga tetap berada dalam pembuluh darah, tetapi jika terjadi peradangan, *evans blue* juga akan keluar menuju jaringan radang (Emanueli *et al.* 1998). Sensitisasi dilakukan dua kali karena pada kasus alergi, sensitisasi menstimulasi pembentukan limfosit pemicu yang menyebar ke seluruh tubuh, sehingga sel tersebut mempunyai ingatan terhadap ovalbumin (OVA) sehingga apabila ovalbumin diinduksikan lagi, maka akan terjadi pembentukan IgE secara lebih cepat (Kresno 2001).

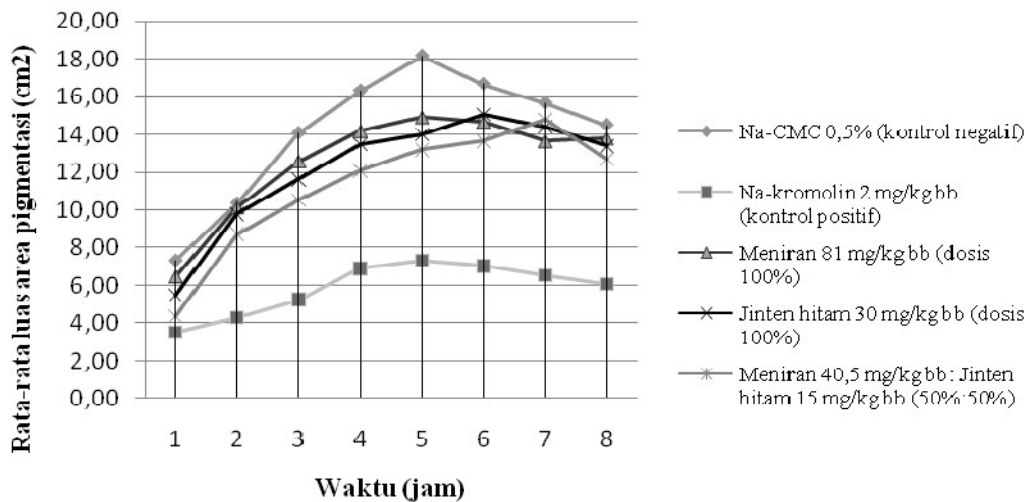
Ovalbumin (OVA) sebagai alergen dapat memicu *Antigen Presenting Cells* (APC) yang akan didegradasi menjadi peptida.  $Al(OH)_3$  sebagai adjuvan bertujuan untuk memperkuat efek alergen ovalbumin (Subiyanto & Diding 2008).

Natrium kromolin digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki aktivitas menghambat pelepasan histamin dan mediator kimia lain pemicu anafilaksis dari sel mast, neutrofil, dan basofil dengan menstabilkan membran sel dalam mengurangi respon alergi dan

reaksi inflamasi (Nugroho & Maeyama 2011).

Hasil uji aktivitas penghambatan anafilaksis ekstrak herba meniran dan biji jinten hitam dapat dilihat pada Gambar 1. Luas area pigmentasi yang mengalami anafilaksis pada kurva kelompok kontrol negatif terlihat lebih tinggi dibandingkan dengan kurva kelompok yang lain. Sedangkan kurva kelompok kontrol positif tampak lebih rendah dibandingkan kurva kelompok kontrol negatif. Terbukti bahwa Na-kromolin 2 mg/kg BB mampu menghambat pigmentasi inflamasi yang ditimbulkan ovalbumin sebagai antigen dengan memblok influks kalsium sehingga

menghambat degranulasi sel mast. Perlakuan senyawa ekstrak etanol 96%, baik dosis tunggal meniran 81 mg/kg BB dan dosis tunggal jinten hitam 30 mg/kg BB serta dosis kombinasi keduanya meniran 40,5 mg/kg BB : jinten hitam 15 mg/kg BB tampak berada di atas kurva kelompok kontrol positif (Na-kromolin), tetapi tetap berada di bawah kurva kelompok kontrol negatif (Na-CMC). Dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan dosis tunggal dan dosis kombinasi herba meniran dan biji jinten hitam mampu menghambat anafilaksis lokal yang ditimbulkan oleh ovalbumin.

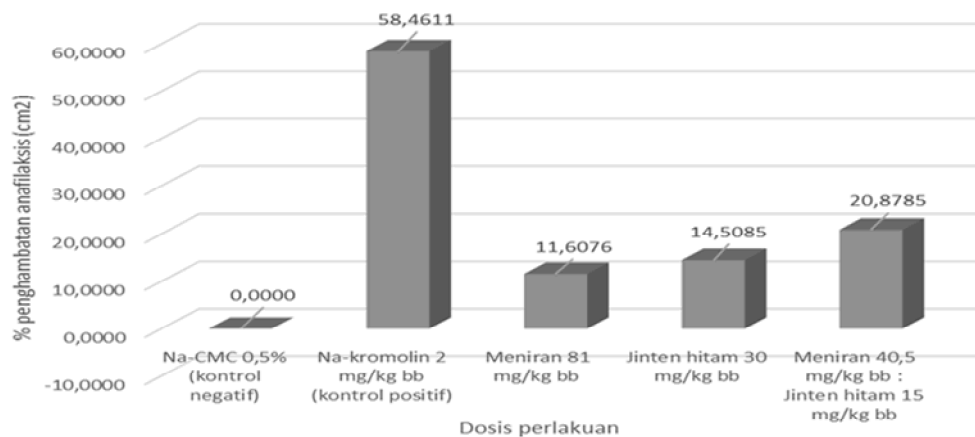


Gambar 1. Kurva rata-rata luas area pigmentasi (cm<sup>2</sup>) vs waktu (jam) perlakuan dosis tunggal dan kombinasi ekstrak herba meniran dan biji jinten hitam.

Tabel 1. Potensi penghambatan ekstrak herba meniran dan biji jinten hitam terhadap aktivitas anafilaksis terinduksi ovalbumin sebagai antigen

Kelompok perlakuan	AUC 0-8 (cm <sup>2</sup> .jam)	Penghambatan anafilaksis kutan aktif (%)
Na-CMC 0,5% (kontrol negatif)	105,78 ± 2,88	0,00 ± 2,72
Na-Kromolin 2 mg/kg BB (kontrol positif)	43,94 ± 3,23	58,46 ± 3,05
Meniran 81 mg/kg BB (dosis 100%)	93,50 ± 2,33*	11,60 ± 2,21*
Jinten hitam 30 mg/kg BB (dosis 100%)	90,43 ± 4,83*	14,50 ± 4,57*
Meniran 40,5 mg/kg BB : jinten hitam 15 mg/kg BB (dosis 50 %:50 %)	83,70 ± 3,07*	20,87 ± 1,29*

\*Berbeda signifikan dengan kontrol negatif dan kontrol positif ( $p < 0,05$ ).



Gambar 2. Persen daya anti-anafilaksis kutan aktif ekstrak herba meniran dan biji jinten hitam dosis tunggal dan kombinasi.

Selanjutnya untuk melihat potensi penghambatan reaksi anafilaksis kutaneus aktif maka dihitung presentase penghambatan reaksi anafilaksis seperti Tabel 1. Semakin kecil nilai rata-rata  $AUC_{0-8}$ , maka dosis ekstrak yang digunakan semakin tinggi efektifitasnya. Dengan menghitung presentase penghambatan aktivitas anafilaksis yang terinduksi ovalbumin sebagai antigen dapat mengetahui potensi penghambatan aktivitas anafilaksis. Berdasarkan hasil statistik ANOVA satu jalan yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc test* metode LSD dengan menggunakan

program SPSS 17, hasil penelitian menunjukkan bahwa kemampuan daya anti-anafilaksis kutan aktif dari ekstrak etanol herba meniran dan biji jinten hitam, baik dosis tunggal dan dosis kombinasi berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol negatif ( $p < 0,05$ ), meski kemampuannya masih di bawah kemampuan daya anti-anafilaksis kutan aktif kelompok kontrol positif Na-kromolin 2 mg/kg BB. Kontrol positif Na-kromolin 2 mg/kg BB yang digunakan mampu menghambat anafilaksis kutan aktif lebih baik dibandingkan dengan kelompok perlakuan ekstrak herba

meniran dan biji jinten hitam, baik dosis tunggal maupun kombinasi. Kemampuan ekstrak herba meniran dan biji jinten hitam, baik dosis tunggal maupun dosis kombinasi, dalam menghambat anafilaksis kutan aktif belum sebanding dengan natrium kromolin sebagai obat antialergi.

Hasil uji statistik menunjukkan dosis tunggal herba meniran 81 mg/kg BB tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ) dengan dosis tunggal biji jinten hitam 30 mg/kg BB. Namun, pemberian kombinasi herba meniran dan biji jinten hitam mampu meningkatkan penghambatan reaksi anafilaksis secara signifikan dibandingkan dosis tunggalnya.

### KESIMPULAN

Ekstrak herba meniran (81 mg/kg BB), biji jinten hitam (30 mg/kg BB) dan kombinasi ekstrak herba meniran (40,5 mg/kg BB) dengan biji jinten hitam (15 mg/kg BB) mampu menghambat reaksi anafilaksis kutaneus aktif dan dapat digunakan sebagai antialergi. Kombinasi ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan biji jinten hitam (*Nigella sativa* L.) memberikan hambatan anafilaksis yang paling efektif.

### DAFTAR PUSTAKA

- Emanuelli C, Grady EF, Madeddu P, Figini M, Bunnett NW *et al.* 1998. Acute ACE inhibition causes plasma extravasation in mice that is mediated by bradykinin and substance P. *American Heart Association* 31:1299-1304.
- Katno dan Pramono S. 2006. Tingkat Manfaat dan Keamanan Tumbuhan Obat dan Obat Tradisional. [Publikasi Penelitian]

[http://cintaialam.tripod.com/keamanan\\_obat%20tradisional.pdf](http://cintaialam.tripod.com/keamanan_obat%20tradisional.pdf).

- Kresno SB. 2001. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi keempat. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. hlm 315.
- Nugroho AE, Maeyama K. 2011. Evaluasi pewarnaan alician blue terhadap sel mast jaringan ikat dari preparat beku jaringan kulit kaki tikus. *Pharmacy* 6:10-22.
- Raissa N. 2011. Uji aktivitas imunostimulan kombinasi ekstrak etanol meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan jinten hitam (*Nigella sativa* L.) pada tikus putih jantan [Skripsi]. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Program Studi Farmasi, Universitas Indonesia.
- Subiyanto AA, Diding. 2008. Pengaruh minyak jinten hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap derajat inflamasi saluran nafas. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 58(6): 200-204.
- Sukandar EY, Andrajati R, Sigit J, Adnyana IK, *et al.* 2011. *Iso Farmakoterapi*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan. Hlm 125.
- Suryono S. 2001. *Buku Ajar: Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid II. Edisi ketiga. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. hlm43-48S.