

**AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN SNEDDS PROPOLIS
TERHADAP PARAMETER JUMLAH LEUKOSIT,
NEUTROFIL, DAN LIMFOSIT PADA TIKUS PUTIH JANTAN
GALUR WISTAR**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm)

Program Studi Farmasi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia
Yogyakarta



Oleh :

HENDRY ADITYA POHARA

16613024

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
JUNI 2020**

SKRIPSI

AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN SNEDDS PROPOLIS TERHADAP PARAMETER JUMLAH LEUKOSIT, NEUTROFIL, DAN LIMFOSIT PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR

Yang diajukan oleh:
HENDRY ADITYA POHARA
16613024

Telah disetujui oleh:

Pembimbing utama,



Cynthia Astiti Putri, S.Farm., M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping,



Annisa Fitria, S.Farm., M.Sc., Apt.

SKRIPSI
AKTIVITAS IMUNOSTIMULAN SNEDDS PROPOLIS
TERHADAP PARAMETER JUMLAH LEUKOSIT,
NEUTROFIL, DAN LIMFOSIT PADA TIKUS PUTIH JANTAN
GALUR WISTAR


Oleh:


HENDRY ADITYA POHARA

16613024

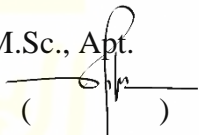
Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan dihadapan Panitia Penguji
Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 9 Juni 2020

Ketua Penguji : Dr. Yandi Syukri S.Si., M.Sc., Apt. ()

Anggota Penguji : 1. Cynthia Astiti Putri, S.Farm., M.Si., Apt. ()

2. Annisa Fitria, S.Farm., M.Sc., Apt. ()

3. Dr. Arba Pramundita Ramadani., S.Farm., M.Sc., Apt. ()

Mengetahui,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia




Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang berjudul “**Aktivitas Imunostimulan SNEDDS Propolis terhadap Parameter Jumlah Leukosit, Neutrofil, dan Limfosit pada Tikus Putih Jantan Galur *Wistar***” tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka

Yogyakarta, 9 Juni 2020



Penulis,

Hendry Aditya Pohara

KATA PENGANTAR



Alhamdulillah, puji syukur dipanjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi “**Aktivitas Imunostimulan SNEDDS Propolis terhadap Parameter Jumlah Leukosit, Neutrofil, dan Limfosit pada Tikus Putih Jantan Galur *Wistar***” dalam rangka menyelesaikan studi di Universitas Islam Indonesia sehingga dapat meraih gelar Sarjana Farmasi (S.Farm). Sholawat serta salam selalu tercurah pada junjungan dan suri tauladan kita Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para keluarga dan para sahabat yang telah memperjuangkan agama Allah SWT.

Penulisan skripsi ini dapat terlaksana atas doa, dukungan dan nasehat dari banyak pihak, untuk itu penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Ibu Cynthia Astiti Putri, S.Farm., M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Annisa Fitria, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, dorongan, dan saran selama penelitian dan penyusunan skripsi ini berlangsung.
2. Orang tua saya tercinta Bapak Hasbullah dan Ibu Jamilah, adik saya Muhammad Farhan Anfasya, Helmy Antya Porinsa, dan Salsabila Naila Alfathunissa yang senantiasa memberikan doa, dukungan, nasihat, dan kasih sayang sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.
3. Bapak Arde Toga Nugraha, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing akademik saya yang selalu membimbing dalam segala hal dari awal semester hingga saat ini saya dapat menyelesaikan skripsi dengan lancar.
4. Bapak Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia
5. Bapak Dr. Yandi Syukri S.Si., M.Sc., Apt. selaku dosen penguji sekaligus sebagai Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

6. Bapak Saepudin, M.Sc., Ph.D. Apt selaku Ketua Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia.
7. Seluruh dosen Program Studi Farmasi Farkultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah memberikan ilmu selama kuliah di Universitas Islam Indonesia.
8. Pak Marno dan Pak Hartanto serta seluruh staf Laboratotorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan bantuan selama proses penelitian berlangsung.
9. Ikhwan Cipta, Rian Fernandi, dan Adiet Hamiru selaku teman seperjuangan saya di Tanah Rantau.
10. Sahabat karib Muhammad Sulaiman dan Budiansyah serta teman-teman yang telah mendoakan saya.
11. Sahabat seperjuangan saya Chandra Aliem, Andi Sinangkau, Andi Barangkau, Muhammad Abdurobbih Al-Hadi, Muhammad Vandu Putra Hendrawan, Tendy Kurniawan, Lidia Desepti Anita, Arvidi Novtiani Febiona, Khoerul Ayu Rhidohan, Sustina Saraswati, Nurhalimatussa'diyah Apriliani, dan Friska Inayatun Nufus yang selalu memberikan nasihat dan doa sehingga penelitian ini berjalan dengan lancar.
12. Dwi Amelia Weuanggi, Nur Atsil, Hodijatul Munawwaroh, Sindy Vellayanti, dan Kartika Puspitasari selaku teman seperjuangan dalam melakukan penelitian ini. Terima kasih atas dukungan dan kerjasama hingga penelitian ini berjalan dengan lancar.
13. Teman-teman Van Giorde 2016 yang selalu memberikan doa, dukungan, dan nasihat sehingga penelitian ini berjalan dengan lancar.
14. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah banyak membantu selama proses pembuatan skripsi ini. Semoga dinilai suatu kebaikan oleh Allah SWT.

Semoga segala dukungan dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis mendapat imbalan dari Allah SWT. Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi masyarakat dan ilmu pengetahuan.

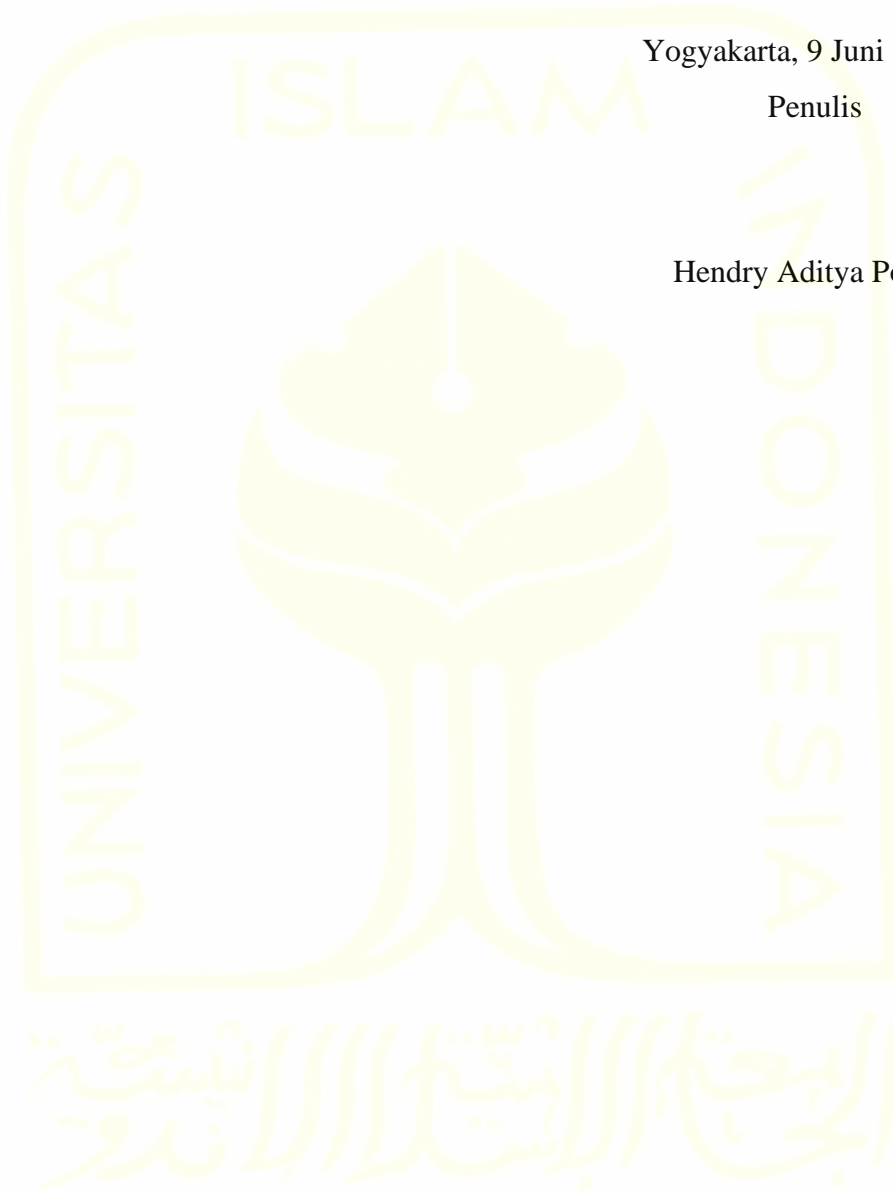
Penulis juga memohon maaf apabila terdapat kesalahan dan kekeliruan karena penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Sekian dan terimakasih.

Wassalamualaikum Wr.Wb

Yogyakarta, 9 Juni 2020

Penulis

Hendry Aditya Pohara



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II STUDI PUSTAKA	4
2.1 Tinjauan Pustaka.....	4
2.1.1 Propolis.....	4
2.1.2 Immunostimulan	5
2.1.3 Levamisol	5
2.1.4 <i>Self Nano-Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)</i>	5
2.1.5 Aktivitas Leukosit, Neutrofil, dan Limfosit	5
2.2 Landasan Teori	7
2.3 Hipotesis	7
2.4 Kerangka Konsep.....	8
BAB III METODE PENELITIAN	9
3.1 Bahan dan Alat	9
3.1.1 Bahan.....	9
3.1.2 Alat	9
3.1.3 Subjek Uji.....	9

3.2 Cara Penelitian.....	10
3.2.1 Pengajuan <i>Ethical Clearance</i>	10
3.2.2 Perhitungan Jumlah Subjek Uji	10
3.2.3 Pembuatan SNEDDS Propolis	10
3.2.4 Penentuan Dosis Pemberian	11
3.2.4.1 Perhitungan Dosis Propolis	11
3.2.4.2 Perhitungan Dosis Levamisol.....	11
3.2.5 Kelompok dan Perlakuan Subjek Uji	12
3.2.6 Uji Pengukuran Jumlah Lekosit, Neutrofil, dan Limfosit	13
3.2.7 Perhitungan Persentase Kenaikan Kadar Neutrofil, Limfosit, dan leukosit	12
3.3 Analisis Hasil.....	12
3.4 Skema penelitian.....	13
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Pengajuan <i>Ethical Clearance</i>	14
4.2 Uji Imunostimulan	14
4.2.1 Jumlah Neutrofil	14
4.2.2 Jumlah Limfosit.....	16
4.2.3 Jumlah Leukosit.....	17
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	19
5.1 Kesimpulan	19
5.2 Saran	19
DAFTAR PUSTAKA	20
LAMPIRAN.....	23

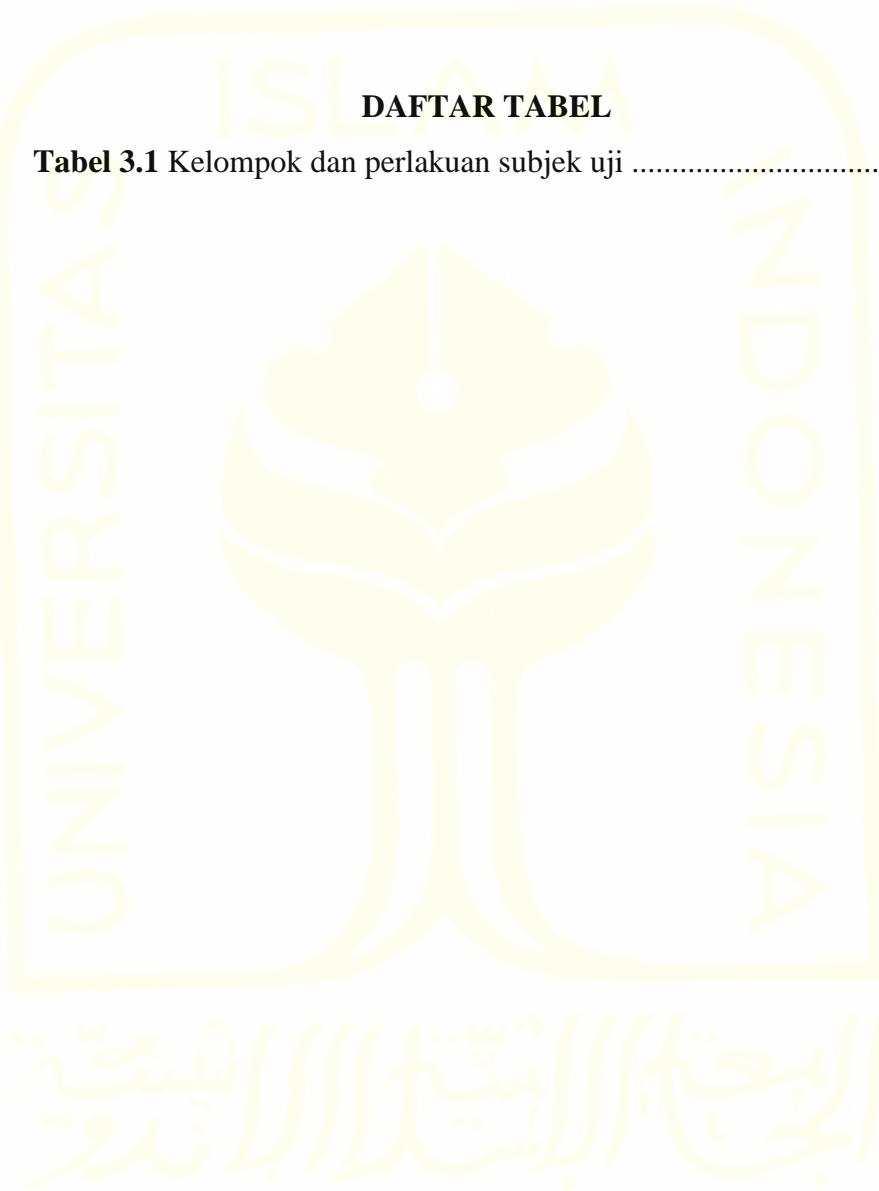
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Propolis atau lem lebah.....	4
Gambar 2.2 Kerangka konsep	8
Gambar 3.1 Skema penelitian.....	13
Gambar 4.1 Rata-rata neutrofil hari ke-0 dan ke-14.....	14
Gambar 4.2 Rata-rata limfosit hari ke-0 dan ke-14.....	16
Gambar 4.3 Rata-rata leukosit hari ke-0 dan ke-14.....	17

UNIVERSITAS
INDONESIA
الجامعة الإسلامية
الاندونيسية

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Kelompok dan perlakuan subjek uji 11



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat <i>Ethical Clearance</i>	23
Lampiran 2. Tabel rata-rata jumlah neutrofil, limfosit, dan leukosit pada hari ke-0 dan ke-14	24
Lampiran 3. Hasil uji statistik metode <i>One-Way ANOVA</i> jumlah neutrofil, limfosit, dan leukosit dengan taraf kepercayaan 95%	26
Lampiran 4. Hasil uji statistik SNEDDS propolis menggunakan metode <i>Paired-Samples T Test</i> pada jumlah neutrofil, limfosit, dan leukosit dengan taraf kepercayaan 95%.....	35

**Aktivitas Imunostimulan SNEDDS Propolis terhadap Parameter Jumlah
Leukosit, Neutrofil, dan Limfosit Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar**

Hendry Aditya Pohara

Prodi Farmasi

INTISARI

Propolis merupakan zat yang diproduksi oleh *Antophila* (lebah) memiliki efek sebagai imunostimulan, tetapi mempunyai sifat kurang larut dalam air sehingga rendahnya nilai bioavailibilitasnya di dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efek farmakologi dari sediaan *self nano-emulsifying drug delivery system* (SNEDDS) propolis terhadap jumlah leukosit, neutrofil, dan limfosit pada tikus jantan galur *Wistar* secara *in vivo*. Penelitian ini menggunakan subjek uji tikus sebanyak 30 ekor yang dibagi ke dalam 5 kelompok, yaitu kontrol normal, kontrol basis, kontrol positif (levamisol dosis 0,9 mg/200 g/hari), suspensi propolis dosis 200mg/200g/hari, dan SNEDDS propolis 200 mg/200 g/hari. Darah diambil pada hari ke-0 dan ke-14 lalu diukur jumlah neutrofil, limfosit, dan leukosit menggunakan *hematologic analyzer*. Data antar kelompok dianalisis dengan statistika menggunakan metode *One-Way ANOVA* dan selanjutnya kelompok SNEDDS propolis dilakukan pengujian *Paired-Samples T Test* untuk perbandingan antara hari ke-0 dan ke-14 dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil uji *One-Way ANOVA* menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok. Pada uji *Paired Samples T-Test* menunjukkan hasil hanya pada jumlah neutrofil yang memiliki perbedaan signifikan ($P < 0,05$) antara hari ke-0 dan ke-14 SNEDDS propolis. SNEDDS propolis mampu meningkatkan jumlah neutrofil (41,22%) dan limfosit (35,32%) sehingga meningkatkan jumlah leukosit (37,26%) sedangkan suspensi propolis hanya meningkatkan jumlah neutrofil (31,17%) serta menurunkan jumlah limfosit (8,66%) sehingga menurunkan jumlah leukosit (0,11%). Dapat disimpulkan bahwa dengan mengubah desain formulasi dari suspensi menjadi SNEDDS dapat meningkatkan efektivitas dari propolis.

Kata kunci : Propolis, SNEDDS, leukosit, neutrofil, limfosit

Immunostimulant Activity of SNEDDS Propolis on The Leukocytes, Neutrophils, and Lymphocytes using Male Wistar White Rats

Hendry Aditya Pohara

Department of Pharmacy

ABSTRACT

Propolis is a substance produce by Antophila (bees) which has an immunostimulant activity and low bioavailability levels in the body due to its low solubility in water. This study aimed to examine the pharmacological effects of self-nano-emulsifying drug delivery system (SNEDDS) propolis on the number of leukocytes, neutrophils, and lymphocytes in male Wistar strain rats in vivo. This research used 30 rat test subjects which were divided into 5 groups, namely normal control, base control, levamisole control dose of 0.9 mg / 200 g / day, propolis suspension dose of 200mg / 200g / day, and SNEDDS propolis dose of 200 mg / 200 g / day. Rat's blood was drawn on days 0 and 14 and was calculated the number of its neutrophils, lymphocytes, and leukocytes using a hematologic analyzer. The data were analyzed statistically using the One-Way ANOVA method. The data of the SNEDDS propolis group was tested using the Paired Samples T-Test to compare the result of day 0 and 14 with a 95% confidence level. One-Way ANOVA test results showed no significant differences ($p < 0.05$) between groups. On the other hand, the Paired Samples T-Test's result showed that the SNEDDS propolis group of day and day 14 showed significant results in leucocyte's number. Self nano emulsifying propolis drug delivery system increased the number of neutrophils (41.22%) and lymphocytes (35.32%), thus increasing the number of leukocytes (37.26%). Whereas propolis suspension only increased the number of neutrophils (31.17%) and decreased the number of lymphocytes (8.66%), thus decreasing the number of leukocytes (0.11%). It can be concluded that by changing the design of the formulation into SNEDDS, the effectiveness of propolis increased.

Keywords: Propolis, SNEDDS, leukocytes, neutrophils, lymphocytes

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada tahun 2020, hampir seluruh negara mengalami dampak pandemik global akibat *corona virus* atau yang dikenal dengan covid-19. *Corona virus* merupakan suatu virus yang menyerang sistem imun sehingga menyebabkan penyakit pernafasan seperti *severe acute respiratory syndrome* (SARS) atau *Middle East respiratory syndrome* (MERS). Covid dapat dilawan dengan salah satu cara yaitu meningkatkan sistem imun (Gasmi *et al.*, 2020; Kannan *et al.*, 2020; Kassem *et al.*, 2016). Oleh karena itu, diperlukan suatu zat yang dapat meningkatkan sistem imun yang dikenal dengan imunostimulan.

Imunostimulan merupakan bagian dari imunomodulator yang memiliki mekanisme memperbaiki sistem imun yang tidak normal dengan cara menaikkan jumlah leukosit baik imun spesifik seperti limfosit ataupun non spesifik seperti neutrofil. Imunostimulan dapat menstimulasi terbentuknya sel limfosit yang dihasilkan oleh timus ataupun sumsum tulang belakang. Selain limfosit, imunostimulan juga dapat mempengaruhi sel imun lain yang bersifat fagosit seperti neutrofil dan dapat meningkatkan kadar sel fagosit. Jumlah leukosit akan meningkat seiring peningkatan jumlah limfosit maupun neutrofil (Sukmayadi *et al.*, 2014; Vallejos-Vidal *et al.*, 2016). Imunostimulan mempunyai kemampuan untuk meningkatkan ketahanan tubuh secara alami dengan melawan agen penginfeksi atau membantu menyembuhkan penyembuhan berbagai jenis penyakit akibat rusaknya sistem imun (Petrunov *et al.*, 2014).

Salah satu zat yang memiliki efek imunostimulan adalah propolis. Propolis diketahui memiliki efek imunostimulan dengan meningkatkan beberapa sel sistem imun. Selain itu propolis juga memiliki khasiat untuk antibakteri, antivirus, antifungi, antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker (Omene *et al.*, 2013; Fitria dan Nurrahman., 2015). Propolis merupakan zat resin yang dihasilkan oleh lebah madu (*Apis mellifera* L.) yang berasal dari cairan pepohonan serta memiliki fungsi dalam membangun dan memelihara sarangnya. Propolis mengandung polifenol (flavonoid, asam fenolat, dan esternya), terpenoid, steroid, dan asam amino (Halim

et al., 2012). Zat aktif pada propolis memiliki kekurangan yaitu kurang larut di dalam air sehingga dapat menurunkan ketersediaan hayatinya di dalam tubuh jika dikonsumsi secara oral (Zhang *et al.*, 2018).

Pada zaman sekarang ini, telah dikembangkan suatu metode formulasi lipid yang disebut *self nano-emulsifying drug delivery system* (SNEDDS) karena dapat meningkatkan ketersediaan hayati obat oral dengan kelarutan yang rendah di dalam air (Kassem *et al.*, 2016). *Self nano-emulsifying drug delivery system* adalah campuran isotropik yang terdiri dari surfaktan, minyak, ko-surfaktan. Pada saat SNEDDS berada di dalam cairan *gastrointestinal* (GI) maka secara tak langsung membentuk nanoemulsi *oil in water* yang dibantu oleh gerakan motilitas GI dengan ukuran nanoemulsi ≤ 200 nm (Gupta *et al.*, 2011; Senapati *et al.*, 2016).

Desain formulasi SNEDDS sudah pernah dilakukan dan terbukti dapat meningkatkan efek nistatin dan adevofir dipivoxil (Gupta *et al.*, 2011; Kassem *et al.*, 2016). Desain formulasi SNEDDS jantan hitam menunjukkan adanya aktivitas imunostimulan yang lebih baik dibandingkan ekstrak tanpa formulasi (Beandrade, 2018). Pembuatan *self nano-emulsifying drug delivery system* (SNEDDS) dengan bahan utama ekstrak propolis dan telah distandariasi sudah berhasil dilakukan. Komponen pembawa SNEDDS yang digunakan adalah minyak kesturi, cremophor RH40, dan PEG 400 (Syukri *et al.*, 2019). Pada penelitian ini akan dilakukan uji farmakologi secara *in vivo* untuk mengetahui aktivitas imunostimulan dari SNEDDS propolis yang dibandingkan dengan suspensi propolis dengan mengukur parameter jumlah leukosit, neutrofil, dan limfosit menggunakan tikus putih jantan galur *Wistar*.

1.2 Rumusan Masalah

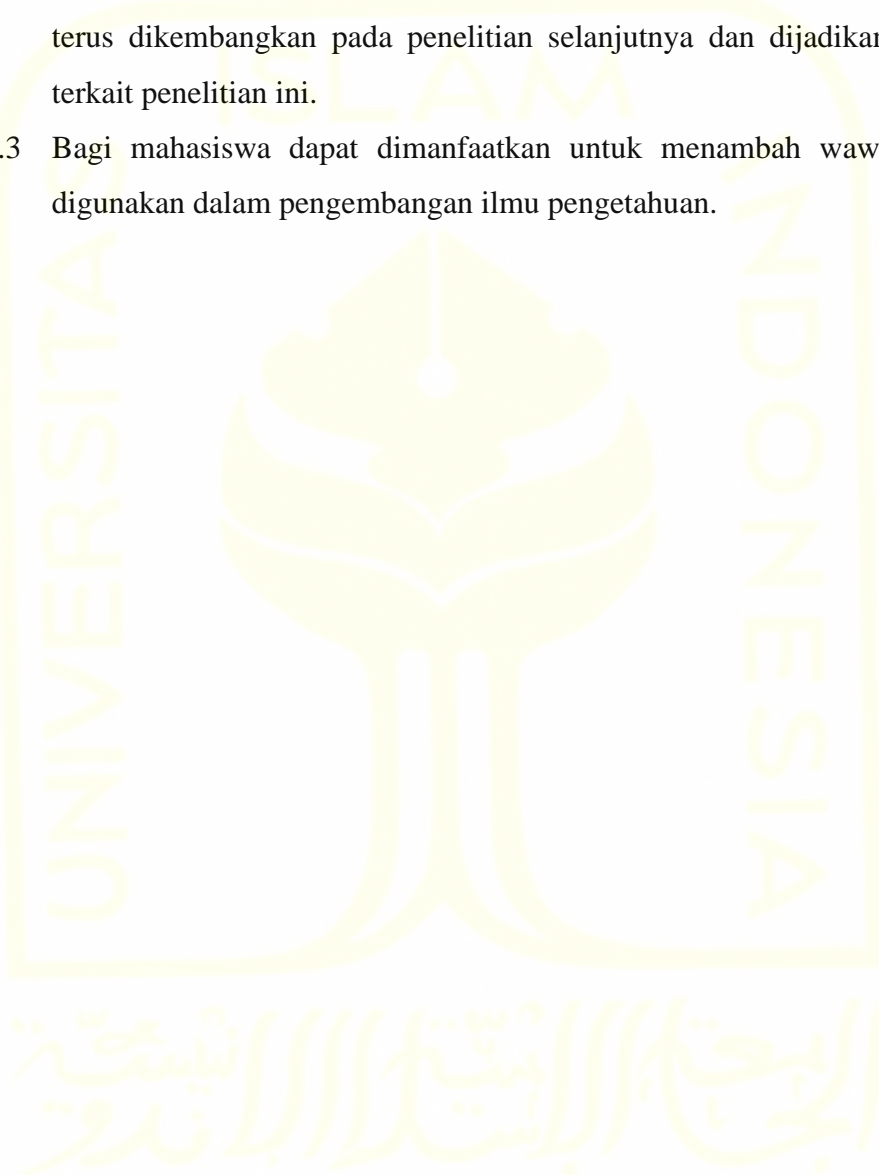
Bagaimana efek farmakologi sediaan *self nano-emulsifying drug delivery system* (SNEDDS) propolis terhadap parameter jumlah neutrofil, limfosit, dan leukosit pada tikus putih jantan galur *Wistar*?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengkaji efek farmakologi dari sediaan *self nano-emulsifying drug delivery system* (SNEDDS) propolis terhadap parameter jumlah neutrofil, limfosit, dan leukosit pada tikus putih jantan galur *Wistar*.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Bagi masyarakat umum dapat memberikan pengetahuan tentang aktivitas imunostimulan SNEEDS propolis.
- 1.4.2 Bagi pengembangan ilmu dapat memberikan hasil penelitian yang bisa terus dikembangkan pada penelitian selanjutnya dan dijadikan referensi terkait penelitian ini.
- 1.4.3 Bagi mahasiswa dapat dimanfaatkan untuk menambah wawasan serta digunakan dalam pengembangan ilmu pengetahuan.



BAB II

STUDI PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Propolis

Propolis berasal dari Bahasa Yunani yang terdiri dari kata *pro* yang berarti untuk atau dalam perlindungan/pertahanan dan kata *polis* yang berarti kota atau sarang sehingga propolis berarti “pertahanan sarang”. Propolis atau lem lebah dibentuk sendiri oleh lebah madu melalui resin yang dikumpulkan yang berasal dari kuncup dan eksudat tanaman yang ditransformasikan menggunakan enzim lebah. Secara umum, propolis di alam terbentuk dari 50% resin dan minyak nabati, 30% lilin, 10 % minyak esensial dan aromatik, 5% serbuk sari, dan 5% dari zat lainnya. Propolis memiliki beragam warna seperti hijau, merah hingga coklat tua. Selain itu propolis mempunyai karakteristik bau yang khas dan memiliki sifat perekat. Tetapi propolis sendiri juga mempunyai kekurangan yaitu ketersediaan hayatinya yang rendah karena kurang larut dalam air (Chan *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2018).

Propolis memiliki beberapa senyawa gizi di dalamnya seperti vitamin (A, B, dan C), mineral (Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Cu, dan Zn), enzim suksinat dehidrogenase, polifenol (flavonoid, asam fenolat, dan esternya), terpenoid, steroid, dan asam amino (Halim *et al.*, 2012; Trusheva *et al.*, 2011). Propolis memiliki zat bioaktif utama yaitu *Caffeic Acid Phenethyl Ester* (CAPE) turunan dari fenolik yang memiliki tugas penting karena memiliki aktivitas antifungi, antioksidan, antibakteri, antikanker, antiinflamasi, serta imunomodulator. Walaupun propolis memiliki banyak khasiat tetapi belum diketahui secara pasti mekanismenya termasuk sebagai imunomodulator (Chan *et al.*, 2013; Fitria dan Nurrahman, 2015; Patel, 2016).



Gambar 2.1 Propolis atau lem lebah (Silva-Carvalho *et al.*, 2015)

2.1.2 Imunostimulan

Imunostimulan adalah salah satu jenis imunomodulator. Imunostimulan memiliki mekanisme memperbaiki sistem imun yang tidak normal dengan cara menaikkan jumlah imun spesifik ataupun non spesifik. Imunostimulan dapat menstimulasi terbentuknya sel limfosit yang dihasilkan oleh timus ataupun sumsum tulang belakang. Selain limfosit, imunostimulan juga dapat mempengaruhi sel imun lain yang bersifat fagosit dengan meningkatkan kadarnya di dalam leukosit (Sukmayadi *et al.*, 2014). Imunostimulan diketahui mampu meningkatkan pertahanan tubuh secara alami dengan melawan agen penginfeksi serta membantu pengobatan berbagai jenis penyakit sistem imun. Penyakit-penyakit yang sering diobati dengan imunostimulan adalah kanker, SARS, AIDS, dan penyakit imun lainnya (Petrunov *et al.*, 2014).

2.1.3 Levamisol

Levamisol turunan derivat imidazol-tiazol merupakan obat sintesis yang awal mulanya digunakan sebagai obat cacing yang memiliki efek imunomodulator. Levamisol memiliki mekanisme dengan memperbaiki jumlah limfosit B, limfosit T, dan sel fagosit yang tidak stabil. Levamisol biasa digunakan pada pengobatan kanker. Selain itu, levamisol telah digunakan pada penyakit autoimun seperti sindrom nefrotik dan rheumatoid arthritis (Oa *et al.*, 2012; Shahbazi dan Bolhassani, 2016).

2.1.4 *Self Nano-Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS)

Self nano-emulsifying drug delivery system merupakan suatu metode nanopartikel atau sediaan yang berisi campuran surfaktan, ko-surfaktan, minyak, dan obat dengan komposisi yang tepat sehingga dapat menghasilkan campuran bersifat isotropik yang stabil. *Self nano-emulsifying drug delivery system* secara spontan akan membentuk nanoemulsi *oil in water* ketika berada di dalam cairan *gastrointestinal* (GI) dengan ukuran ≤ 200 nm (Gupta *et al.*, 2011; Nugroho *et al.*, 2018). *Self nano-emulsifying drug delivery system* memiliki beberapa keuntungan seperti meningkatkan ketersediaan hayati obat, ukuran tetesan minyak yang kecil sehingga memperluas area permukaan antarmuka untuk pelepasan dan penyerapan obat, dan memiliki stabilitas yang tinggi sehingga SNEDDS dapat menurunkan

dosis dan frekuensi penggunaan obat secara oral dibandingkan bentuk sediaan oral lainnya. (Gupta *et al.*, 2011; Senapati *et al.*, 2016).

2.1.5 Aktivitas Leukosit, Neutrofil, dan Limfosit

Leukosit atau biasa disebut sebagai sel darah putih memiliki tugas penting dalam menjaga sistem imun tubuh sehingga dapat melawan agen penginfeksi. Jumlah normal leukosit berkisar antara $5,1-20,1 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Oyetayo, 2006). Leukosit memiliki beberapa tipe sel sesuai dengan morfologinya yaitu neutrofil, limfosit, basofil, eosinofil, dan monosit. Peningkatan jumlah leukosit disebut sebagai leukositosis, sedangkan penurunan jumlah leukosit disebut sebagai leukopenia (Mazin *et al.*, 2017). Pada saat terjadi leukositosis dapat disebabkan adanya infeksi sehingga menyebabkan inflamasi. Infeksi akibat virus dapat menyebabkan kenaikan kadar neutrofil dan menurunkan kadar limfosit, sedangkan infeksi akibat bakteri dapat menyebabkan kenaikan kadar limfosit dan penurunan kadar neutrofil (Fitria dan Nurrahman., 2015).

Neutrofil merupakan salah satu tipe sel leukosit yang memiliki persentase sekitar 12-38% dari jumlah total leukosit. Neutrofil merupakan sistem imun non spesifik yang berfungsi sebagai pertahanan seluler yang bersifat fagosit. Apabila jumlah neutrofil meningkat maka disebut dengan neutrofilia, sedangkan jika menurun disebut neutropenia (Douglas dan Wardrop, 2010; Fitria dan Sarto, 2014; Fitria dan Nurrahman., 2015; Marshall *et al.*, 2018). Neutrofil memiliki peran pada produksi molekul bioaktif pengenalan dan penghancuran patogen, komunikasi dan aktivasi seluler, respon inflamasi serta perbaikan jaringan (Vallejos-Vidal *et al.*, 2016).

Limfosit termasuk ke dalam sistem imun spesifik berjumlah 60-75% dari total leukosit. Limfosit merupakan imun adaptif yang memiliki fungsi pengenalan antigen spesifik, membasmi patogen spesifik baik secara humoral maupun seluler, serta sebagai memori sistem imun jika mengalami infeksi oleh patogen yang pernah menginfeksi tubuh. Limfosit terdiri dari sel T spesifik antigen yang berproliferasi karena pengenalan antigen oleh APC dan sel B yang berdiferensiasi membentuk sel plasma menciptakan antibodi. Limfosit dapat mengalami limfositosis jika

jumlahnya meningkat, sedangkan apabila jumlahnya menurun maka disebut dengan leukopenia (Fitria dan Nurrahman, 2015; Marshall *et al.*, 2018).

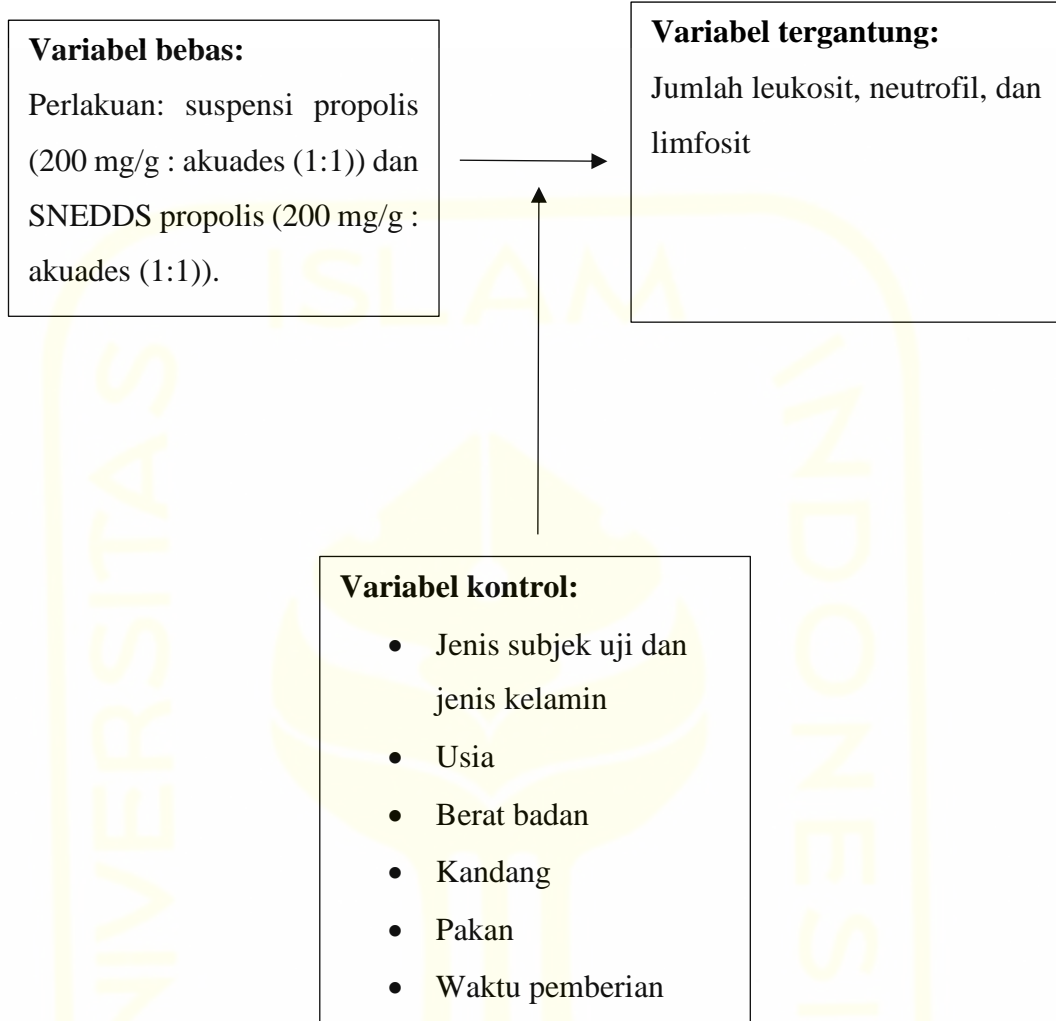
2.2 Landasan Teori

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan pengujian klinis suspensi propolis dengan menggunakan tikus putih galur *Wistar* berusia 5 bulan. Hasil yang didapatkan pada penelitian ini adalah terjadinya kenaikan jumlah leukosit, kenaikan jumlah neutrofil dan penurunan jumlah limfosit maka dapat disimpulkan bahwa propolis memiliki efek imunostimulan terhadap neutrofil sehingga menyebabkan meningkat jumlah leukosit (Fitria dan Nurrahman., 2015). Pada penelitian Oršolić *et al* (2010) menggunakan propolis yang larut air dan ekstrak etanolik propolis menyimpulkan bahwa terjadi peningkatan jumlah neutrofil, limfosit maupun leukosit. Penelitian uji *ex vivo* dan *in vitro* sudah pernah dilakukan pada adefovir dan menunjukkan hasil bahwa SNEDDS adefovir mampu meningkatkan penyerapan serta ketersediaan hayati yang lebih baik dibandingkan dengan formulasi suspensi (Gupta *et al.*, 2011).

2.3 Hipotesis

Sediaan SNEDDS propolis memiliki aktivitas imunostimulan yang lebih baik dibandingkan suspensi propolis dengan parameter jumlah leukosit, neutrofil, dan limfosit pada tikus putih jantan galur *Wistar*.

2.4 Kerangka Konsep



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah propolis (diperoleh dari CV. Rumah Lebah Jawa Timur), levamisol, minyak kesturi, cremophor RH40, PEG 400, akuabides, *ketamine-xylazine*, *microtube*, dan EDTA.

3.1.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *vortex* (Heidolph Reax Top, Germany), seperangkat alat gelas (Pyrex), timbangan analitik (Metler Toledo), magnetik stirer, sentrifugator (Nuve-NF 400), spuit oral, dan *hematology analyzer*.

3.1.3 Subjek Uji

Subjek uji diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Pra Klinik Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia. Sebanyak 30 ekor subjek uji yang dipelihara di kotak plastik berukuran 40 cm x 60 cm x 20 cm bertutup kawat, masing-masing kotak berisi 6 ekor tikus dengan beralaskan sekam pada Laboratorium Farmakologi Klinik Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia. Adapun kriteria penggunaan tikus putih jantan galur *Wistar* yaitu sebagai berikut:

a) Kriteria inklusi

1. Tikus jantan putih galur *Wistar*
2. Sehat, normal, bergerak aktif
3. Usia 2-3 bulan
4. Berat badan 180-250 gram

b) Kriteria eksklusi

Penurunan berat badan secara signifikan, sakit, ataupun kematian pada subjek uji saat penelitian berlangsung.

c) Aklimatisasi

Aklimatisasi pada penelitian bertujuan agar subjek uji dapat menyesuaikan lingkungan pada suasana laboratorium dan menghilangkan stres akibat transportasi. Aklimatisasi dilakukan selama 7 hari pada kondisi standar

laboratorium, diberi pakan standar dan minum *ad libitum*, siklus terang gelap 12/12 jam, serta penggantian sekam yang telah dijemur setiap 3 hari serta penimbangan berat badan setiap seminggu sekali.

d) Pemusnahan

Subjek uji dikubur dengan kedalaman 1,5 m pada tempat yang kering sehingga tidak menyebabkan bau dan bebas dari jangkauan hewan lain.

3.2 Cara Penelitian

3.2.1 Pengajuan *Ethical Clearance*

Ethical Clearance (Kelayakan Etik) diajukan untuk memastikan perlakuan yang diberikan kepada subjek uji telah sesuai etika. *Ethical Clearance* pada penelitian ini diajukan kepada Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.

3.2.2 Perhitungan Jumlah Subjek Uji

Jumlah subjek uji dihitung dengan menggunakan rumus Federer, yaitu:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

n: jumlah perlakuan

t: jumlah pengulangan untuk setiap perlakuan

Maka jumlah subjek uji pada penelitian ini adalah:

$$(n-1)(5-1) \geq 15$$

$$(n-1)4 \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4.75 \text{ (5 ekor)}$$

Jumlah subjek uji tiap kelompok adalah 6 ekor untuk mengantisipasi apabila subjek uji masuk dalam kriteria eksklusi.

3.2.3 Pembuatan SNEDDS Propolis

Self nano-emulsifying drug delivery system propolis dibuat dengan formulasi komposisi minyak, surfaktan, ko-surfaktan, dan zat aktif dengan mencampurkan minyak kesturi (20%), cromophor RH40 (70%), PEG 400 (10%), dan propolis sebanyak 200 mg ke dalam tabung reaksi berdasarkan perbandingan komposisi yang telah ditentukan kemudian dihomogenkan dengan *vortex*.

Pengamatan visual dilakukan terhadap pembentukan nanoemulsi dengan parameter warna kejernihan dan homogenitas.

3.2.4 Penentuan Dosis Pemberian

3.2.4.1 Perhitungan Dosis Propolis

Pada penelitian ini, dosis propolis adalah diambil 1 ml dari 200 mg/g : 1 ml akuades baik suspensi maupun SNEDDS. Jumlah tikus yang digunakan dalam satu kelompok sebanyak 6 ekor selama 13 hari sehingga dibutuhkan suspensi dan SNEDDS propolis sebanyak 78 mL. Stok dibuat setiap 3 hari sehingga stok yang diperlukan sebanyak 3.600 mg/18ml. Volume stok dilebihkan menjadi 20 ml sehingga dibuat stok sebanyak 4.000 mg/20 ml setiap 3 hari selama 13 hari.

3.2.4.2 Perhitungan Dosis Levamisol

Dosis levamisol berdasarkan penelitian sebelumnya adalah 50 mg/kgBB manusia /hari lalu dikonversi ke dalam dosis tikus menjadi 0,9 mg/200 gr/hari. Jumlah tikus yang digunakan dalam satu kelompok sebanyak 6 ekor. Jumlah stok yang dibutuhkan untuk 13 hari sebanyak 78 ml. Stok dibuat setiap 3 hari sehingga stok yang diperlukan sebanyak 16,2 mg/18 ml. Volume stok dilebihkan menjadi 20 ml sehingga dibuat stok sebanyak 18 mg/20 ml setiap 3 hari selama 13 hari.

3.2.5 Kelompok dan Perlakuan Subjek Uji

Tabel 3.1 Kelompok dan perlakuan subjek uji

Kelompok	Perlakuan
Kontrol normal	Akuades sebanyak 2 ml secara oral selama 13 hari.
Kontrol basis	Basis SNEDDS : akuades (1:1) sebanyak 2 ml secara secara oral selama 13 hari.
Kontrol positif	Levamisol (imunostimulan) 0,9 mg/200 g/hari : akuades (1:1) sebanyak 2 ml diberikan secara oral selama 13 hari.
Suspensi propolis	Suspensi propolis 200 mg/200 g/hari : akuades (1:1) sebanyak 2 ml secara oral selama 13 hari.

SNEDDS SNEDDS Propolis 200 mg/200 g/hari : akuades (1:1) sebanyak 2 ml
propolis diberikan secara oral selama 13 hari.

3.2.6 Uji Pengukuran Jumlah Neutrofil, Limfosit, dan Leukosit

Pengukuran jumlah leukosit, neutrofil, dan limfosit menggunakan sampel darah yang diambil melalui *sinus orbitalis*. Sebelum pengambilan darah, subjek uji dianestesi menggunakan *ketamine-xylazine* dosis 100 mg/kgBB. Sampel darah dimasukkan ke dalam *microtube* yang telah diisi dengan EDTA 0,1 % agar darah tidak mengalami koagulasi. Plasma darah selanjutnya dihitung jumlah neutrofil, limfosit, dan leukosit dengan menggunakan *hematology analyzer* pada saat hari ke-0 dan hari ke-14.

3.2.7 Perhitungan Persentase Kenaikan Kadar Neutrofi, Limfosit, dan Leukosit

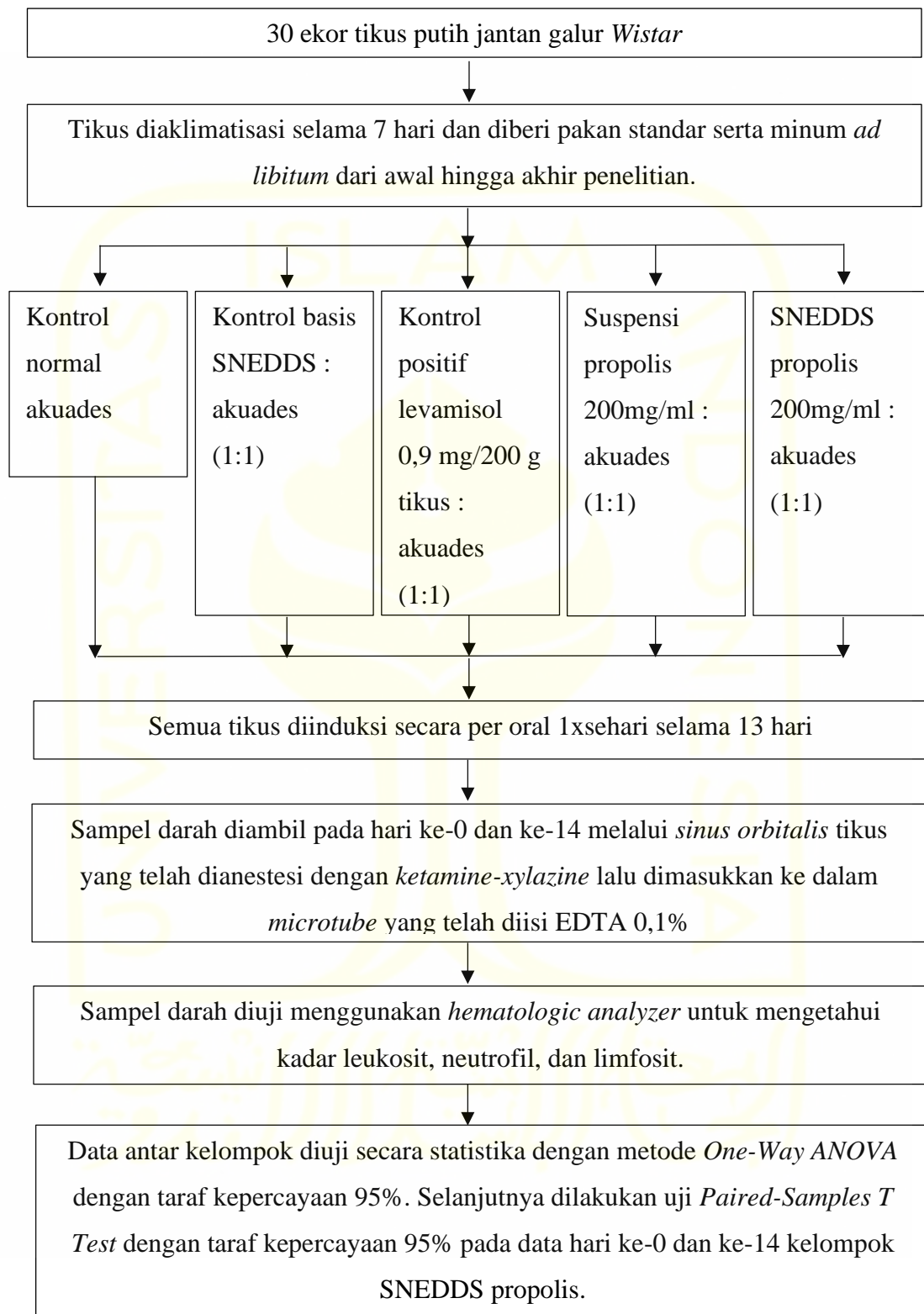
Rumus pesentase kenaikan kadar :

Rumus kenaikan (%) = (kadar hari ke-14 kelompok yang dicari - kadar hari ke-14 kelompok normal) / kadar hari ke-14 kelompok normal x 100% (3.1)

3.3 Analisis Hasil

Data jumlah neutrofil, limfosit, dan leukosit masing-masing kelompok diuji menggunakan metode *One-Way ANOVA* dan *Post Hoc Tukey* ($p < 0,05$). Selanjutnya data hari ke-0 dan ke-14 kelompok SNEDDS propolis diuji dengan metode *Paired-Samples T Test* ($p < 0,05$).

3.4 Skema Penelitian



Gambar 3.1 Skema penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

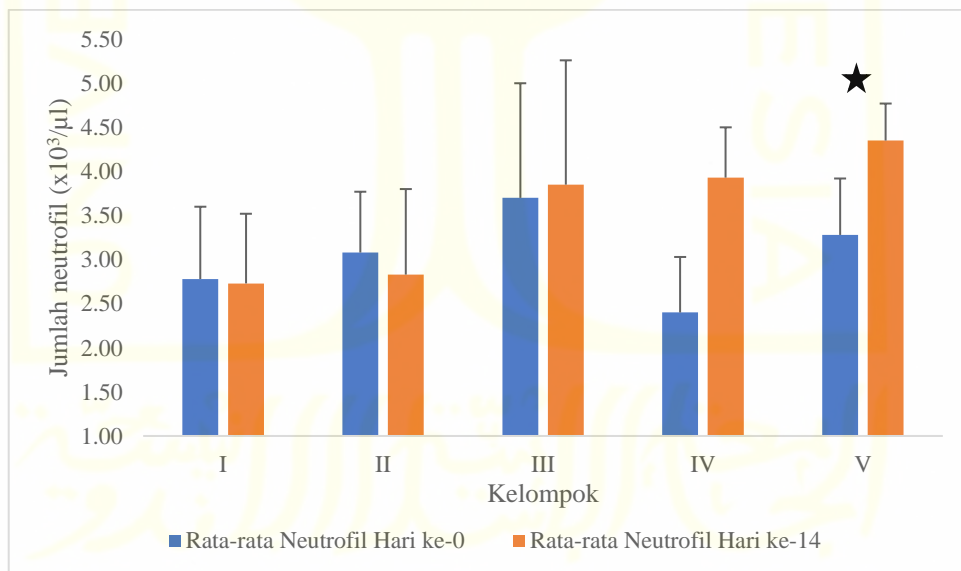
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek imunostimulan *self nano-emulsifying drug delivery system* (SNEDDS) propolis terhadap jumlah leukosit, neutrofil, dan limfosit yang diinduksi pada tikus putih jantan galur *Wistar*. Perbandingan efek imunostimulan SNEDDS propolis dengan suspensi propolis dan suspensi levamisol untuk mengetahui efektivitas SNEEDS propolis pada perubahan jumlah leukosit, neutrofil, dan limfosit.

4.1 Pengajuan *Ethical Clearance*

Penelitian ini telah memenuhi syarat secara etik dan dinyatakan layak untuk dilaksanakan perlakuan pada hewan uji tikus putih jantan galur *Wistar* sesuai dengan disetujuinya *Ethical Clearance* oleh Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan nomor 3/Ka.Kom.Et/70/KE/II/2020.

4.2 Uji Imunostimulan

4.2.1 Jumlah Neutrofil



Gambar 4.1 Rata-rata neutrofil pada setiap kelompok pada hari ke-0 dan ke-14

Keterangan :

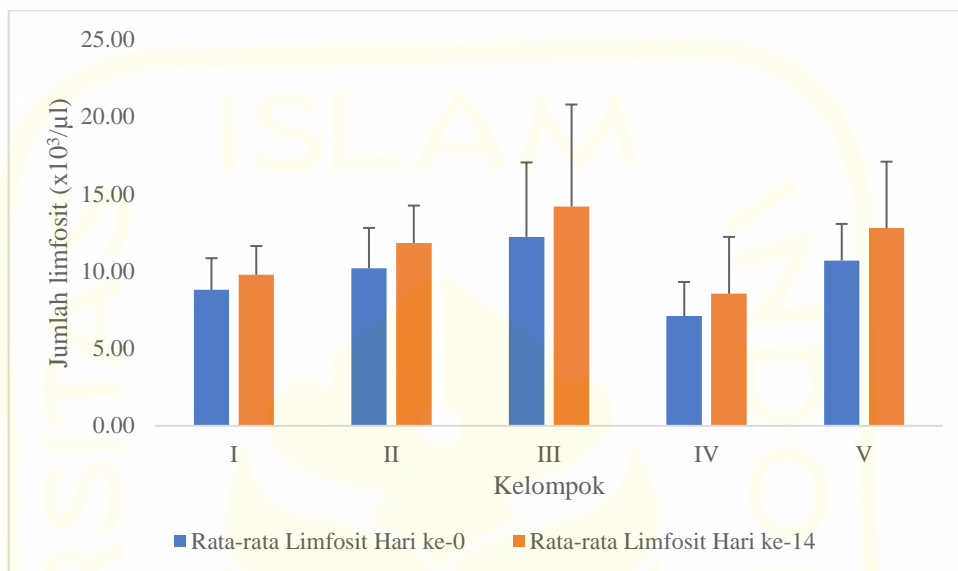
(★) adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara hari ke-0 dan ke-14

(I) kontrol normal, (II) kontrol basis, (III) kontrol positif levamisol, (IV) suspensi propolis, (V) SNEDDS propolis.

Neutrofil merupakan sel imun bawaan (non spesifik) bersifat fagosit memiliki kemampuan sebagai pertahanan seluler (Marshall *et al.*, 2018). Rentang normal neutrofil pada tikus adalah $0,61-7,63 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Douglas dan Wardrop, 2010; Oyetayo, 2006). Jumlah neutrofil pada kontrol normal setelah 14 hari perlakuan sebesar $2,73 \times 10^3/\mu\text{L}$. Pada kontrol basis mengalami sedikit peningkatan jumlah neutrofil yaitu sebesar 3,66%. Hal ini kemungkinan terjadi karena jumlah neutrofil masing-masing tikus bervariasi dan berfluktuatif (Fitria dan Sarto, 2014). Kelompok kontrol positif levamisol, suspensi propolis, dan SNEDDS propolis mengalami peningkatan jumlah neutrofil yang cukup tinggi dibandingkan dengan kontrol normal dan kontrol basis. Peningkatan jumlah neutrofil tersebut disebabkan oleh efek imunostimulan. Pada kelompok SNEDDS propolis mengalami peningkatan kadar neutrofil yang paling tinggi yaitu sebesar 41,22% sedangkan suspensi propolis sebesar 31,37%, kontrol levamisol sebesar 39,58%. Semua kelompok mengalami perubahan jumlah neutrofil tetapi masih dalam rentang normal. Dari data tersebut diketahui bahwa SNEDDS propolis memiliki efek imunostimulan yang lebih baik dibandingkan kontrol positif levamisol dan suspensi propolis yang disebabkan oleh ukuran partikel SNEDDS yang lebih kecil sehingga meningkatkan bioavailabilitas zat aktif. Hasil uji *One-Way ANOVA* menyatakan bahwa tidak ada perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok. Selanjutnya dilakukan uji *Paired-Samples T Test* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antara sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok SNEDDS propolis. Hasil yang didapatkan yaitu adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) yang berarti SNEDDS propolis memberi pengaruh terhadap peningkatan jumlah neutrofil. Menurut Fitria dan Nurrahman (2015) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa suspensi propolis memiliki efek imunostimulan dengan meningkatkan jumlah neutrofil. Menurut Oršolić *et al* (2010) pada penelitiannya menunjukkan adanya peningkatan neutrofil yang signifikan ($p < 0,05$) pada turunan propolis yang larut air maupun ekstrak etanolik propolis. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa SNEDDS propolis mampu lebih baik meningkatkan jumlah neutrofil sebesar 41,22% dibandingkan dengan levamisol maupun suspensi propolis sehingga dapat

disimpulkan bahwa SNEDDS propolis memiliki aktivitas imunostimulan yang lebih baik dibandingkan levamisol dan suspensi propolis.

4.2.2 Jumlah Limfosit



Gambar 4.2 Rata-rata limfosit pada setiap kelompok pada hari ke-0 dan ke-14

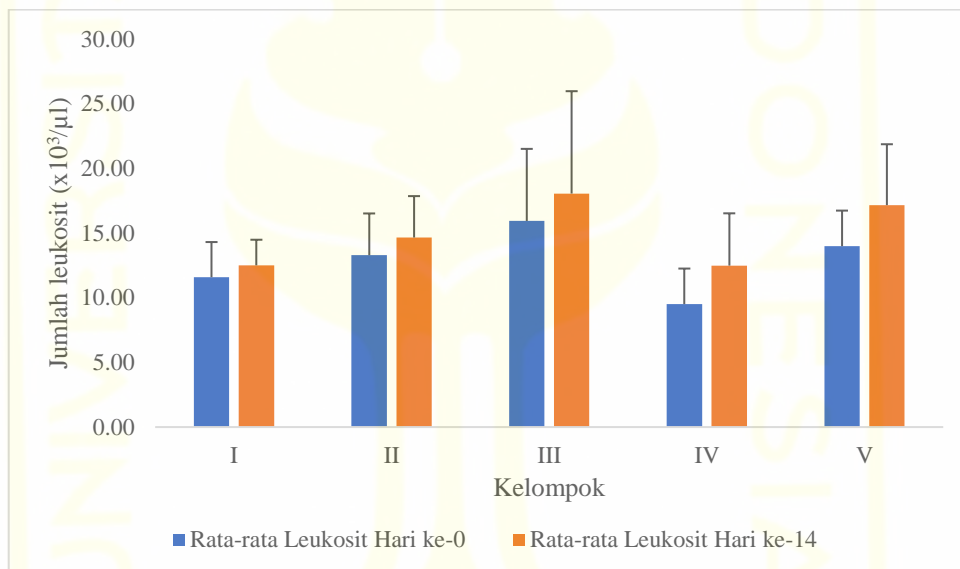
Keterangan :

(I)kontrol normal, (II) kontrol basis, (III) kontrol positif levamisol, (IV) suspensi propolis, (V) SNEDDS propolis.

Limfosit merupakan sel imun adaptif (spesifik) yang memiliki fungsi membantu sel B membangun antibodi, mengenal dan melawan virus, serta mengaktifkan makrofag. Rentang normal jumlah limfosit dalam darah tikus adalah $3,06-15,07 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Douglas dan Wardrop, 2010; Oyetayo, 2006). Jumlah limfosit pada kontrol normal setelah 14 hari perlakuan sebesar $9,78 \times 10^3/\mu\text{L}$. Pada kelompok suspensi propolis mengalami penurunan persen kadar limfosit sebesar 8,66%. Keadaan limfopenia ini terjadi sesuai dengan penelitian Fitria dan Nurrahman (2015) bahwa suspensi propolis mengalami efek immunosupresan. Menurut Oršolić *et al* (2010) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa jumlah limfosit tidak mengalami peningkatan yang signifikan ($p < 0,05$) menggunakan turunan propolis yang larut air maupun ekstrak etanolik propolis. Tetapi pada penelitian ini mengalami kenaikan jumlah limfosit pada kelompok kontrol basis,

kontrol positif levamisol, dan SNEDDS propolis. Kontrol basis mengalami peningkatan limfosit sebesar 20,96% yang diduga karena variasi biologis hewan uji ataupun karena nilai standar deviasi yang cukup tinggi. Kelompok SNEDDS propolis mengalami peningkatan limfosit sebesar 35,32% yang hampir sama baiknya dengan kontrol positif levamisol yaitu sebesar 37,36%. Semua perubahan jumlah limfosit setiap kelompok masih dalam rentang normal. Keadaan meningkatnya jumlah limfosit sebesar 35,32% pada SNEDDS propolis menunjukkan efek imunostimulan terhadap limfosit yang lebih baik dibandingkan dengan formulasi suspensi.

4.2.3 Jumlah Leukosit



Gambar 4.3 Rata-rata leukosit pada setiap kelompok pada hari ke-0 dan ke-14

Keterangan :

(I)kontrol normal, (II) kontrol basis, (III) kontrol positif levamisol, (IV) suspensi propolis, (V) SNEDDS propolis.

Kisaran normal leukosit di dalam darah tikus adalah $5,1-20,1 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Oyetayo, 2006). Jumlah leukosit dipengaruhi besar oleh perubahan dari jumlah neutrofil maupun limfosit karena kedua sel tersebut memiliki jumlah terbesar di dalam leukosit. Jumlah leukosit pada kontrol normal setelah 14 hari perlakuan adalah sebesar $12,5 \times 10^3/\mu\text{L}$. Pada kelompok basis mengalami peningkatan jumlah leukosit sebesar 17,20% yang disebabkan oleh peningkatan jumlah neutrofil dan

limfosit. Begitu juga pada kelompok suspensi propolis yang mengalami penurunan jumlah leukosit sebesar 0,11% yang disebabkan adanya penurunan jumlah limfosit. Semua perubahan jumlah leukosit masih masuk dalam rentang normal. Menurut Fitria dan Nurrahman (2015) dalam penelitiannya disebutkan bahwa suspensi propolis mampu meningkatkan jumlah leukosit pada tikus. Menurut Oršolić *et al* (2010) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa turunan propolis yang larut air maupun ekstrak etanolik propolis dikombinasi dengan irinocetan lebih meningkatkan jumlah leukosit dibandingkan dengan irinocetan sendirian. Pada kelompok positif levamisol dan SNEDDS propolis mengalami kenaikan jumlah leukosit. Keadaan ini terjadi karena adanya peningkatan jumlah neutrofil dan limfosit pada masing-masing kelompok perlakuan. Peningkatan jumlah leukosit pada SNEDDS propolis sebesar 37,26 % hampir sama dengan peningkatan leukosit pada kontrol levamisol yaitu sebesar 37,88%. Berdasarkan uji secara statistik menggunakan metode *One-Way ANOVA* menyatakan bahwa tidak ada perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok. Selanjutnya dilakukan uji *Paired-Samples T Test* pada kelompok SNEDDS propolis didapatkan hasil tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) jumlah leukosit antara hari ke-0 dan ke-14. Berdasarkan penelitian ini menunjukkan bahwa SNEDDS propolis memiliki efektivitas sebagai imunostimulan yang lebih baik dibandingkan suspensi propolis dalam meningkatkan jumlah leukosit.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa dengan mengubah bentuk sediaan propolis dari suspensi menjadi SNEDDS dapat meningkatkan absorpsi dan efektivitas dari propolis sebagai imunostimulan karena SNEDDS memiliki ukuran partikel yang lebih kecil sehingga dapat meningkatkan jumlah neutrofil dan limfosit sehingga meningkatkan jumlah leukosit yang lebih baik. Peningkatan jumlah neutrofil, limfosit, dan leukosit pada SNEDDS propolis juga hampir sama efektifnya dengan kontrol levamisol. Hal ini dibuktikan dengan adanya peningkatan jumlah neutrofil (41,22%), limfosit (35,32%), dan leukosit (37,26%) pada SNEDDS propolis sedangkan suspensi propolis hanya

meningkatkan neutrofil (31,17%) serta menurunkan jumlah limfosit (8,66%) sehingga menurunkan jumlah leukosit (0,11%).



BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Sediaan SNEDDS propolis memiliki aktivitas imunostimulan yang lebih baik terhadap parameter neutrofil, limfosit, dan leukosit dibandingkan dengan suspensi propolis karena ukuran partikel SNEDDS lebih kecil dibandingkan ukuran partikel suspensi sehingga menyebabkan meningkatnya jumlah absorpsi dan meningkatkan efek imunostimulan propolis.

5.2 Saran

Perlu dilakukan uji pendahuluan dan optimasi dosis, penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas SNEDDS propolis terhadap sel-sel imun yang lain, uji keamanan, serta efek samping dari SNEDDS propolis.

DAFTAR PUSTAKA

- Beandrade, M.U., 2018. Formulasi dan Karakterisasi SNEDDS Ekstrak Jinten Hitam (*Nigella Sativa*) dengan Fase Minyak Ikan Hiu Cucut Botol (*Centrophorus Sp*) serta Uji Aktivitas Imunostimulan. *JPSCR J. Pharm. Sci. Clin. Res.* 3, 50.
- Chan, G.C.F., Cheung, K.W., Sze, D.M.Y., 2013. The Immunomodulatory and Anticancer Properties of Propolis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 44, 262–273.
- Douglas, J., Wardrop, K., 2010. *Schalm's Veterinary Hematology*, 6th ed. Wiley-Blackwell.
- Fitria, L., Nurrahman, M.O., 2015. Potensi Propolis sebagai Imunomodulator pada Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar yang Diinduksi Penisilin-G. *Biog. J. Ilm. Biol.* 3, 124–131.
- Fitria, L., Sarto, M., 2014. Profil Hematologi Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Jantan dan Betina Umur 4, 6, dan 8 Minggu. *Biog. J. Ilm. Biol.* 2, 94–100.
- Gasmi, A., Noor, S., Tippairrote, T., Dadar, M., Menzel, A., 2020. Individual Risk Management Strategy and Potential Therapeutic Options for The COVID-19 Pandemic. *Clin. Immunol.* 215, 1–9.
- Gupta, S., Chavhan, S., Sawant, K.K., 2011. Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System for Adefovir Dipivoxil: Design, Characterization, In Vitro and Ex Vivo Evaluation. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 392, 145–155.
- Halim, E., Sutandyo, N., Sulaeman, A., Artika, M., 2012. Bioactive Compounds and Nutrients Content of Indonesian and Brazilian Propolis. *J. Gizi dan Pangan* 7, 1–6.
- Kannan, S., Shaik Syed Ali, P., Sheeza, A., Hemalatha, K., 2020. COVID-19 (Novel Coronavirus 2019) - Recent Trends. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 24, 2006–2011.
- Kassem, A.A., Mohsen, A.M., Ahmed, R.S., Essam, T.M., 2016. Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) With Enhanced Solubilization of Nystatin for Treatment of Oral Candidiasis: Design,

- Optimization, In Vitro and In Vivo Evaluation. *J. Mol. Liq.* 218, 219–232.
- Marshall, J.S., Warrington, R., Watson, W., Kim, H.L., 2018. An Introduction to Immunology and Immunopathology. Allergy, Asthma Clin. *Immunol.* 14, 1–10.
- Mazin Z, Thabit S, A.B., 2017. Neural Network Classification of White Blood Cell Using Microscopic Images. *Int. J. Adv. Comput. Sci. Appl.* 8, 99-104.
- Nugroho, B.H., Sari, N.P., 2018. Formulation of Self Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Karamunting Leaf Extract (*Rhomomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk). *J. Ilm. Farm.* 14, 1–8.
- Oa, O., Bo, E., Cao, A., Medicine, V., Pathology, V., 2012. Immune Response and Flock Performance of Commercial Broilers. *Brazilian J. Poult. Sci.*
- Omene, C., Kalac, M., Wu, J., Marchi, E., Frenkel, K., O'Connor, O.A., 2013. Propolis and Its Active Component, Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE), Modulate Breast Cancer Therapeutic Targets Via An Epigenetically Mediated Mechanism of Action. *J. Cancer Sci. Ther.* 5, 334–342.
- Oršolić, N., Benković, V., Lisičić, D., Dikić, D., Erhardt, J., Knežević, A.H., 2010. Protective Effects of Propolis and Related Polyphenolic/Flavonoid Compounds Against Toxicity Induced By Irinotecan. *Med. Oncol.* 27, 1346–1358.
- Oyetayo, O. V, 2006. Haematological Studies of Rats Fed Different Doses of Probiotic , *Lactobacillus plantarum* , Isolated from Fermenting Corn Slurry. *Pakistan J. Nutr.* 5, 102–105.
- Patel, S., 2016. Emerging Adjuvant Therapy for Cancer: Propolis and its Constituents. *J. Diet. Suppl.* 13, 245–268.
- Petrunov, B., Nenkov, P., Shekerdjiisky, R., 2014. The Role of Immunostimulants in Immunotherapy and Immunoprophylaxis. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 21, 454–462.
- Schijns, V., Lavelle, E.C., 2020. Prevention and Treatment Of COVID-19 Disease By Controlled Modulation of Innate Immunity. *Eur. J. Immunol.* n/a, 1–19.
- Senapati, P.C., Sahoo, S.K., Sahu, A.N., 2016. Mixed Surfactant Based (SNEDDS) Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System Presenting Efavirenz For

- Enhancement Of Oral Bioavailability. *Biomed. Pharmacother.* 80, 42–51.
- Shahbazi, S., Bolhassani, A., 2016. Immunostimulants: Types and Functions. *J. Med. Microbiol. Infect. Dis.* 4, 45–51.
- Silva-Carvalho, R., Baltazar, F., Almeida-Aguiar, C., 2015. Propolis: A Complex Natural Product with a Plethora of Biological Activities That Can Be Explored for Drug Development. Evidence-based Complement. *Altern. Med.* 2015.
- Sukmayadi, A.E., Sumiwi, S.A., Barliana, M.I., Aryanti, anisa D., 2014. The Immunomodulatory Activity of Ethanol Extract of Tempuyung Leaves (*Sonchus arvensis* Linn.). *Ijgst* 1, 65–72.
- Syukri, Y., Kholidah, Z., Chabib, L., 2019. Formulation And Stability Studies Of Propolis Self-Nano Emulsifying Using Castor Oil, Cremophor RH 40 Dan PEG 400 As The Carriers. *J Sains Farm Klin* 6, 266–274.
- Trusheva, B., Popova, M., Koendhori, E.B., Tsvetkova, I., Naydenski, C., Bankova, V., 2011. Indonesian Propolis: Chemical Composition, Biological Activity And Botanical Origin. *Nat. Prod. Res.* 25, 606–613.
- Vallejos-Vidal, E., Reyes-López, F., Teles, M., MacKenzie, S., 2016. The Response Of Fish To Immunostimulant Diets. *Fish Shellfish Immunol.* 56, 34–69.
- Zhang, H., Fu, Y., Niu, F., Li, Z., Ba, C., Jin, B., Chen, G., Li, X., 2018. Enhanced Antioxidant Activity And In Vitro Release Of Propolis By Acid-Induced Aggregation Using Heat-Denatured Zein And Carboxymethyl Chitosan. *Food Hydrocoll.* 81, 104–112.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Ethical Clearance



FAKULTAS
KEDOKTERAN

Gedung Dr. Soekiman Wiryandjaja
Kampus Terpadu Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang km 14,5 Yogyakarta 55184
T. (0274) 898444 ext. 2096, 2097
F. (0274) 898459 ext. 2007
E. ffk@uii.ac.id
W. ffk.uii.ac.id

Nomor : 3/ Ka.Kom.Et/70/KE/II/2020

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the research protocol entitled :

"Uji Aktivitas Sediaan Self Nano Emulsifying Drugs Delivery System (SNEDDS) Propolis Sebagai Imunostimulan pada Tikus Wistar Jantan"

Peneliti Utama : Annisa Fitria, M.Sc., Apt
Principal Investigator

Nama Institusi : Program Studi Farmasi FMIPA UII
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
and approved the above-mentioned protocol.

Yogyakarta, 10 Februari 2020

Ketua

Chairman



dr. Rahma Nurjanti, M.Sc, Sp.PK

*Ethical Approval berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan

**Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila :
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical clearance* harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti di tangan jalan
3. Melaporkan kejadian *serious* yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*

Lampiran 2. Tabel rata-rata jumlah neutrofil, limfosit, dan leukosit pada hari ke-0 dan ke-14

Kelompok	Tikus	Neutrofil		Limfosit		Leukosit	
		Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-0	Hari ke-14
Kontrol normal	1	2.8	1.7	10.2	11.3	13.0	13.0
	2	3.8	3.4	10.9	10	14.7	13.4
	3	2.7	3.3	6.8	10.7	9.5	14.0
	4	1.8	2.5	7.3	7.1	9.1	9.6
	rata-rata	2.78	2.73	8.80	9.78	11.58	12.50
	SD	0.82	0.79	2.05	1.86	2.72	1.98
Kelompok	Tikus	Neutrofil		Limfosit		Leukosit	
		Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-0	Hari ke-14
Kontrol negatif	1	2.5	2.8	9.2	12	11.7	14.8
	2	3.2	2.3	8.8	8.6	12.0	10.9
	3	2.6	2	8.7	12.2	11.3	14.2
	4	4	4.2	14.1	14.5	18.1	18.7
	rata-rata	3.08	2.83	10.20	11.83	13.28	14.65
	SD	0.69	0.97	2.61	2.43	3.23	3.20
Kelompok	Tikus	Neutrofil		Limfosit		Leukosit	
		Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-0	Hari ke-14
Kontrol positif	1	2.3	3.1	9.1	8.2	11.4	11.3
	2	5	5.4	9.9	19.4	14.9	24.8
	3	2.9	2.3	10.5	8.8	13.4	11.1
	4	4.6	4.6	19.4	20.4	24.0	25.0
	rata-rata	3.70	3.85	12.23	14.20	15.93	18.05
	SD	1.30	1.41	4.82	6.60	5.57	7.91
Kelompok	Tikus	Neutrofil		Limfosit		Leukosit	
		Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-0	Hari ke-14
Perlakuan I	1	1.7	3.6	4.9	4.8	6.6	8.4
	2	3.2	3.9	8.8	6.4	12.0	10.3
	3	2.5	4.6	9.2	13	11.7	17.6
	4	2.2	3.6	5.5	10	7.7	13.6
	rata-rata	2.40	3.93	7.10	8.55	9.50	12.48
	SD	0.63	0.47	2.21	3.68	2.75	4.04

Kelompok	Tikus	Neutrofil		Limfosit		Leukosit	
		Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-0	Hari ke-14
Perlakuan II	1	3.6	4.8	9.1	16.6	12.7	21.4
	2	4	4.6	13.2	15.9	17.2	20.5
	3	2.9	4.1	12.2	11.3	15.1	15.4
	4	2.6	3.9	8.3	7.4	10.9	11.3
	rata-rata	3.28	4.35	10.70	12.80	13.98	17.15
	SD	0.64	0.42	2.37	4.30	2.75	4.71



Lampiran 3. Hasil uji satistik metode *One-Way ANOVA* jumlah neutrofil, limfosit, dan leukosit dengan taraf kepercayaan 95%

Neutrofil

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
neutrofil hari 0	Between Groups	3.887	4	.972	1.332	.303
	Within Groups	10.942	15	.729		
	Total	14.829	19			
neutrofil hari 14	Between Groups	8.303	4	2.076	2.625	.076
	Within Groups	11.862	15	.791		
	Total	20.165	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
neutrofil hari 0	kontrol normal	kontrol negatif	-.3000	.6039	.986	-2.165	1.565
		kontrol positif	-.9250	.6039	.559	-2.790	.940
		perlakuan I	.3750	.6039	.969	-1.490	2.240
		perlakuan II	-.5000	.6039	.918	-2.365	1.365
	kontrol negatif	kontrol normal	.3000	.6039	.986	-1.565	2.165
		kontrol positif	-.6250	.6039	.835	-2.490	1.240
		perlakuan I	.6750	.6039	.795	-1.190	2.540

		perlakuan II	-2.000	.6039	.997	-2.065	1.665
	kontrol positif	kontrol normal	.9250	.6039	.559	-.940	2.790
		kontrol negatif	.6250	.6039	.835	-1.240	2.490
		perlakuan I	1.3000	.6039	.250	-.565	3.165
		perlakuan II	.4250	.6039	.952	-1.440	2.290
	perlakuan I	kontrol normal	-.3750	.6039	.969	-2.240	1.490
		kontrol negatif	-.6750	.6039	.795	-2.540	1.190
		kontrol positif	-1.3000	.6039	.250	-3.165	.565
		perlakuan II	-.8750	.6039	.608	-2.740	.990
	perlakuan II	kontrol normal	.5000	.6039	.918	-1.365	2.365
		kontrol negatif	.2000	.6039	.997	-1.665	2.065
		kontrol positif	-.4250	.6039	.952	-2.290	1.440
		perlakuan I	.8750	.6039	.608	-.990	2.740
neutrofil hari 14	kontrol normal	kontrol negatif	-1.000	.6288	1.000	-2.042	1.842
		kontrol positif	-1.1250	.6288	.415	-3.067	.817
		perlakuan I	-1.2000	.6288	.355	-3.142	.742
		perlakuan II	-1.6250	.6288	.124	-3.567	.317
	kontrol negatif	kontrol normal	.1000	.6288	1.000	-1.842	2.042
		kontrol positif	-1.0250	.6288	.502	-2.967	.917
		perlakuan I	-1.1000	.6288	.436	-3.042	.842

	perlakuan II	-1.5250	.6288	.162	-3.467	.417
kontrol positif	kontrol normal	1.1250	.6288	.415	-.817	3.067
	kontrol negatif	1.0250	.6288	.502	-.917	2.967
	perlakuan I	-.0750	.6288	1.000	-2.017	1.867
	perlakuan II	-.5000	.6288	.928	-2.442	1.442
perlakuan I	kontrol normal	1.2000	.6288	.355	-.742	3.142
	kontrol negatif	1.1000	.6288	.436	-.842	3.042
	kontrol positif	.0750	.6288	1.000	-1.867	2.017
	perlakuan II	-.4250	.6288	.959	-2.367	1.517
perlakuan II	kontrol normal	1.6250	.6288	.124	-.317	3.567
	kontrol negatif	1.5250	.6288	.162	-.417	3.467
	kontrol positif	.5000	.6288	.928	-1.442	2.442
	perlakuan I	.4250	.6288	.959	-1.517	2.367

Limfosit

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
limfosit hari 0	Between Groups	60.562	4	15.140	1.692	.204
	Within Groups	134.187	15	8.946		
	Total	194.749	19			
limfosit hari 14	Between Groups	82.957	4	20.739	1.221	.343
	Within Groups	254.805	15	16.987		
	Total	337.762	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
limfosit hari 0	kontrol normal	kontrol negatif	-1.4000	2.1149	.962	-7.931	5.131
		kontrol positif	-3.4250	2.1149	.508	-9.956	3.106
		perlakuan I	1.7000	2.1149	.925	-4.831	8.231
		perlakuan II	-1.9000	2.1149	.893	-8.431	4.631
	kontrol negatif	kontrol normal	1.4000	2.1149	.962	-5.131	7.931
		kontrol positif	-2.0250	2.1149	.870	-8.556	4.506
		perlakuan I	3.1000	2.1149	.598	-3.431	9.631
		perlakuan II	-.5000	2.1149	.999	-7.031	6.031

	kontrol positif	kontrol normal	3.4250	2.1149	.508	-3.106	9.956
		kontrol negatif	2.0250	2.1149	.870	-4.506	8.556
		perlakuan I	5.1250	2.1149	.162	-1.406	11.656
		perlakuan II	1.5250	2.1149	.948	-5.006	8.056
	perlakuan I	kontrol normal	-1.7000	2.1149	.925	-8.231	4.831
		kontrol negatif	-3.1000	2.1149	.598	-9.631	3.431
		kontrol positif	-5.1250	2.1149	.162	-11.656	1.406
		perlakuan II	-3.6000	2.1149	.462	-10.131	2.931
	perlakuan II	kontrol normal	1.9000	2.1149	.893	-4.631	8.431
		kontrol negatif	.5000	2.1149	.999	-6.031	7.031
		kontrol positif	-1.5250	2.1149	.948	-8.056	5.006
		perlakuan I	3.6000	2.1149	.462	-2.931	10.131
limfosit hari 14	kontrol normal	kontrol negatif	-2.0500	2.9144	.953	-11.049	6.949
		kontrol positif	-4.4250	2.9144	.567	-13.424	4.574
		perlakuan I	1.2250	2.9144	.993	-7.774	10.224
		perlakuan II	-3.0250	2.9144	.834	-12.024	5.974
	kontrol negatif	kontrol normal	2.0500	2.9144	.953	-6.949	11.049
		kontrol positif	-2.3750	2.9144	.922	-11.374	6.624
		perlakuan I	3.2750	2.9144	.792	-5.724	12.274
		perlakuan II	-.9750	2.9144	.997	-9.974	8.024

	kontrol positif	kontrol normal	4.4250	2.9144	.567	-4.574	13.424
		kontrol negatif	2.3750	2.9144	.922	-6.624	11.374
		perlakuan I	5.6500	2.9144	.340	-3.349	14.649
		perlakuan II	1.4000	2.9144	.988	-7.599	10.399
perlakuan I	kontrol normal		-1.2250	2.9144	.993	-10.224	7.774
	kontrol negatif		-3.2750	2.9144	.792	-12.274	5.724
	kontrol positif		-5.6500	2.9144	.340	-14.649	3.349
	perlakuan II		-4.2500	2.9144	.602	-13.249	4.749
perlakuan II	kontrol normal		3.0250	2.9144	.834	-5.974	12.024
	kontrol negatif		.9750	2.9144	.997	-8.024	9.974
	kontrol positif		-1.4000	2.9144	.988	-10.399	7.599
	perlakuan I		4.2500	2.9144	.602	-4.749	13.249

Leukosit

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
leukosit hari 0	Between Groups	95.000	4	23.750	1.854	.171
	Within Groups	192.110	15	12.807		
	Total	287.110	19			
leukosit hari 14	Between Groups	106.668	4	26.667	1.157	.368
	Within Groups	345.577	15	23.038		
	Total	452.245	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
leukosit hari 0	kontrol normal	kontrol negatif	-1.7000	2.5305	.960	-9.514	6.114
		kontrol positif	-4.3500	2.5305	.452	-12.164	3.464
		perlakuan I	2.0750	2.5305	.920	-5.739	9.889
		perlakuan II	-2.4000	2.5305	.873	-10.214	5.414
	kontrol negatif	kontrol normal	1.7000	2.5305	.960	-6.114	9.514
		kontrol positif	-2.6500	2.5305	.830	-10.464	5.164
		perlakuan I	3.7750	2.5305	.583	-4.039	11.589
		perlakuan II	-.7000	2.5305	.999	-8.514	7.114

	kontrol positif	kontrol normal	4.3500	2.5305	.452	-3.464	12.164
		kontrol negatif	2.6500	2.5305	.830	-5.164	10.464
		perlakuan I	6.4250	2.5305	.134	-1.389	14.239
		perlakuan II	1.9500	2.5305	.935	-5.864	9.764
	perlakuan I	kontrol normal	-2.0750	2.5305	.920	-9.889	5.739
		kontrol negatif	-3.7750	2.5305	.583	-11.589	4.039
		kontrol positif	-6.4250	2.5305	.134	-14.239	1.389
		perlakuan II	-4.4750	2.5305	.426	-12.289	3.339
	perlakuan II	kontrol normal	2.4000	2.5305	.873	-5.414	10.214
		kontrol negatif	.7000	2.5305	.999	-7.114	8.514
		kontrol positif	-1.9500	2.5305	.935	-9.764	5.864
		perlakuan I	4.4750	2.5305	.426	-3.339	12.289
leukosit hari 14	kontrol normal	kontrol negatif	-2.1500	3.3940	.967	-12.630	8.330
		kontrol positif	-5.5500	3.3940	.499	-16.030	4.930
		perlakuan I	.0250	3.3940	1.000	-10.455	10.505
		perlakuan II	-4.6500	3.3940	.654	-15.130	5.830
	kontrol negatif	kontrol normal	2.1500	3.3940	.967	-8.330	12.630
		kontrol positif	-3.4000	3.3940	.851	-13.880	7.080
		perlakuan I	2.1750	3.3940	.966	-8.305	12.655
		perlakuan II	-2.5000	3.3940	.944	-12.980	7.980

kontrol positif	kontrol normal	5.5500	3.3940	.499	-4.930	16.030
	kontrol negatif	3.4000	3.3940	.851	-7.080	13.880
	perlakuan I	5.5750	3.3940	.495	-4.905	16.055
	perlakuan II	.9000	3.3940	.999	-9.580	11.380
perlakuan I	kontrol normal	-.0250	3.3940	1.000	-10.505	10.455
	kontrol negatif	-2.1750	3.3940	.966	-12.655	8.305
	kontrol positif	-5.5750	3.3940	.495	-16.055	4.905
	perlakuan II	-4.6750	3.3940	.650	-15.155	5.805
perlakuan II	kontrol normal	4.6500	3.3940	.654	-5.830	15.130
	kontrol negatif	2.5000	3.3940	.944	-7.980	12.980
	kontrol positif	-.9000	3.3940	.999	-11.380	9.580
	perlakuan I	4.6750	3.3940	.650	-5.805	15.155

Lampiran 4. Hasil uji statistik SNEDDS propolis menggunakan metode *Paired-Samples T Test* pada jumlah neutrofil, limfosit, dan leukosit dengan taraf kepercayaan 95%

Neutrofil

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Perlakuan 2 Neutrofil hari ke 0	3.2750	4	.63966	.31983
	Perlakuan 2 Neutrofil hari ke 14	4.3500	4	.42032	.21016

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Perlakuan 2 Neutrofil hari ke 0 & Perlakuan 2 Neutrofil hari ke 14	4	.899	.101

Paired Samples Test

		Paired Differences			95% Confidence Interval of the Difference
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower
Pair 1	Perlakuan 2 Neutrofil hari ke 0 - Perlakuan 2 Neutrofil hari ke 14	-1.07500	.32016	.16008	-1.58444

Paired Samples Test

Paired Differences					
95% Confidence Interval of the Difference					
	Upper	t	df	Sig. (2-tailed)	
Pair 1	Perlakuan 2 Neutrofil hari ke 0 - Perlakuan 2 Neutrofil hari ke 14	-.56556	-6.715	3	.007



Limfosit

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Perlakuan 2 Limfosit hari ke 0	10.7000	4	2.36784	1.18392
	Perlakuan 2 Limfosit hari ke 14	12.8000	4	4.29961	2.14981

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Perlakuan 2 Limfosit hari ke 0 & Perlakuan 2 Limfosit hari ke 14	4	.405	.595

Paired Samples Test

		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference Lower
Pair 1	Perlakuan 2 Limfosit hari ke 0 - Perlakuan 2 Limfosit hari ke 14	-2.10000	3.97995	1.98997	-8.43299

Paired Samples Test

Paired Differences					
95% Confidence Interval of the Difference					
	Upper	t	df	Sig. (2-tailed)	
Pair 1	Perlakuan 2 Limfosit hari ke 0 - Perlakuan 2 Limfosit hari ke 14	4.23299	-1.055	3	.369

UNIVERSITAS ISLAMIA INDONESIA
 الجامعة الإسلامية بالاندونيسيا

Leukosit

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Perlakuan 2 Leukosit hari ke 0	13.9750	4	2.75363	1.37682
	Perlakuan 2 Leukosit hari ke 14	17.1500	4	4.71063	2.35531

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Perlakuan 2 Leukosit hari ke 0 & Perlakuan 2 Leukosit hari ke 14	4	.550	.450

Paired Samples Test

		Paired Differences			95% Confidence Interval of the Difference
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower
Pair 1	Perlakuan 2 Leukosit hari ke 0 - Perlakuan 2 Leukosit hari ke 14	-3.17500	3.93732	1.96866	-9.44016

Paired Samples Test

Paired Differences	t	df	Sig. (2-tailed)
--------------------	---	----	-----------------

		95% Confidence Interval of the Difference			
		Upper			
Pair 1	Perlakuan 2 Leukosit hari ke 0 - Perlakuan 2 Leukosit hari ke 14	3.09016	-1.613	3	.205

JADWAL PENELITIAN

No	Jenis Kegiatan	Bulan ke-					
		1	2	3	4	5	6
1	Pengajuan <i>ethical clearance</i>	■	■				
2	Pembuatan suspensi levamisol, suspensi propolis, dan SNEDDS propolis			■	■		
3	Pengujian jumlah kadar limfosit, neutrofil, dan leukosit			■	■		
4	Analisis hasil				■	■	
5	Pembuatan laporan					■	■