

Lampiran 1. Determinasi dan Uji Fitokimia Tanaman Sirih Merah

 DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR UPT MATERIA MEDICA Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313) KOTA BATU	
Nomor	: 074/104/101.8/2015
Sifat	: Biasa
Perihal	: <u>Determinasi Tanaman Sirih Merah</u>
Memenuhi permohonan saudara : Nama / NIM : MUHAMMAD HASBI A. / 125130107111016 GETTY AMURA L. / 125130101111019 BONA ARI SWASTI M. / 125130100111037 PAISAL RAHMAN / 125130101111033 MARINA CORSELIA S. / 125130100111035	
Fakultas	: FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
1. Perihal determinasi tanaman sirih merah Kingdom : Plantae Sub Kingdom : (Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh) Super Divisi : Spermatophyta. (Menghasilkan Biji) Divisi : Angiospermae/ Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga) Kelas : Dicotyledonae/ Magnoliopsida (Berkeping dua) Bangsa : Piperales Suku : Piperaceae Marga : Piper Jenis : <i>Piper crocatum</i> Sinonim : <i>Piper cf. fragile</i> Benth Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43b-54b-59b-61-62b-63a-64a	
2. Morfologi : Habitus : Perdu, merambat, . Batang : Berkayu, bulat, berbuku-buku, beralur, hijau. Daun Tunggal, ujung meruncing, bulat panjang, pangkal bentuk jantung tepi rata, panjang 5-8 cm, lebar 2-5 cm, bertangkai, permukaan halus, pertulangan menyirip Warna bagian bawahnya merah mengkilap dengan bentuk daun. Akar : Tunggang, buiat, coklat kekuningan.	
3. Nama Simplicia : <i>Piperis crocati Folium</i> / Daun Sirih Merah	
4. Kandungan kimia : Alkaloid, terpenoid, isprenoid, flavonoid, saponin, cyanogenik, glukosida, glu-casonilate, tanin, senyawa polevenolad dan non protein amino acid.	
5. Penggunaan : Penelitian	
6. Daftar Pustaka : • Syamsuhidayat, Sri sugati, Hutapea, Johny Ria. <i>Inventaris Tanaman Obat Indonesia</i> Departemen Kesehatan Republik Indonesia : Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan. • Steenis, CGGJ Van Dr, <i>FLORA</i> , 2008, Pradnya Paramita, Jakarta • Anonim, http://tchsirihmerah.com/ Sirih merah obat beragam penyakit, diakses tanggal 27 Mei 2010.	
Batu, 03 Maret 2016 Kepala UPT Materia Medica Batu  Dr. Husin RM, Drs., Apt., M.Kes. NIP.19611102 199103 1 003	



DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR
UPT MATERIA MEDICA

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)

KOTA BATU

Nomor : 074 /127/101.8 / 2016
Sifat : Biasa
Perihal : Surat Keterangan Skrining Fitokimia

Halaman : 1 dari 2

Memenuhi permohonan saudara :

Nama	NIM	Fakultas
Muhammad Hasbi Assidial	125130107111016	Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang
Getty Amura Lafali	125130107111019	
Bona Ari Swasti M	125130107111037	
Paisal Rahman	125130107111033	
Marina Corselia	125130107111035	

Kami menerangkan bahwa yang bersangkutan telah melakukan Skrining Fitokimia untuk bahan penelitian dari Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*).

Adapun proses skrining dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu dengan perincian sebagai berikut :

Bahan :
Larutan uji Formaldehid 3%
HCL pekat Pereaksi Meyer
Serbuk Mg Pereaksi Dragendrof
Aquadest

Alat :
Tabung reaksi Corong gelas
Bunsen Beakerglass
Pipet tetes

Cara Kerja :

I. Identifikasi Flavonoid

5gr sampel → ditambahkan 50ml air dipanaskan selama 5 menit → Ditambah HCL Pekat beberapa tetes → ditambah sedikit serbuk Mg → Hasil positif : Warna merah tua , merah muda

II. Identifikasi Tanin

0.5ml sampel → ditambahkan FeCl₃ 1% → Warna positif warna hijau, biru, ungu, biru tua, hijau kehitaman

III. Identifikasi Alkaloid

2gr sampel → ditambahkan 1ml HCL 2N + 9ml aquades → dipanaskan selama 5 menit → Filtrat disaring → dimasukkan ke tabung reaksi → ditambahkan pereaksi meyer, dragendrof → Hasil positif : endapan jingga atau merah coklat Dragendrof, endapan putih Meyer

IV. Identifikasi Saponin

1g sampel → ditambahkan 2ml air panas → dikocok kuat → Hasil positif : terbentuk buih permanen selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10cm → ditambahkan HCL pekat 1 tetes → Hasil positif : busa permanen tidak hilang

Hasil :

Nama	Flavonoid	Tanin	Alkaloid		Saponin
			Meyer	Dragendrof	
Ekstrak Daun Sirih Merah (<i>Piper Crocatum</i>)	+	+	-	-	+

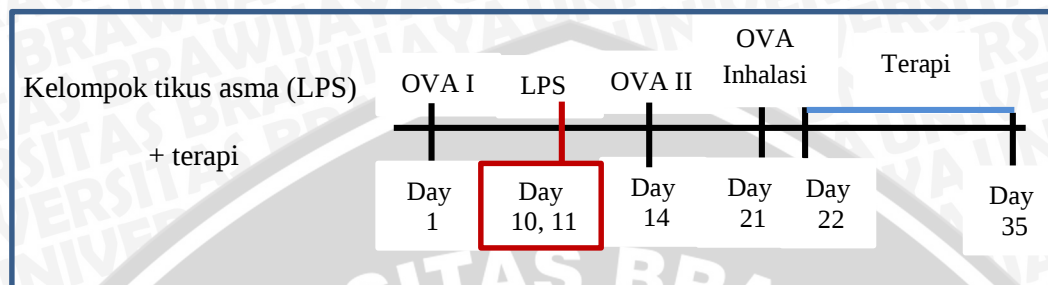
Demikian keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 10 Maret 2016
 Kepala UPT Materia Medica Batu

 Dr. Husin RM, Drs. Apt. MKes.
 NIP. 19611102 199103 1 003

Lampiran 2. Kerangka Operasional Rancangan Penelitian

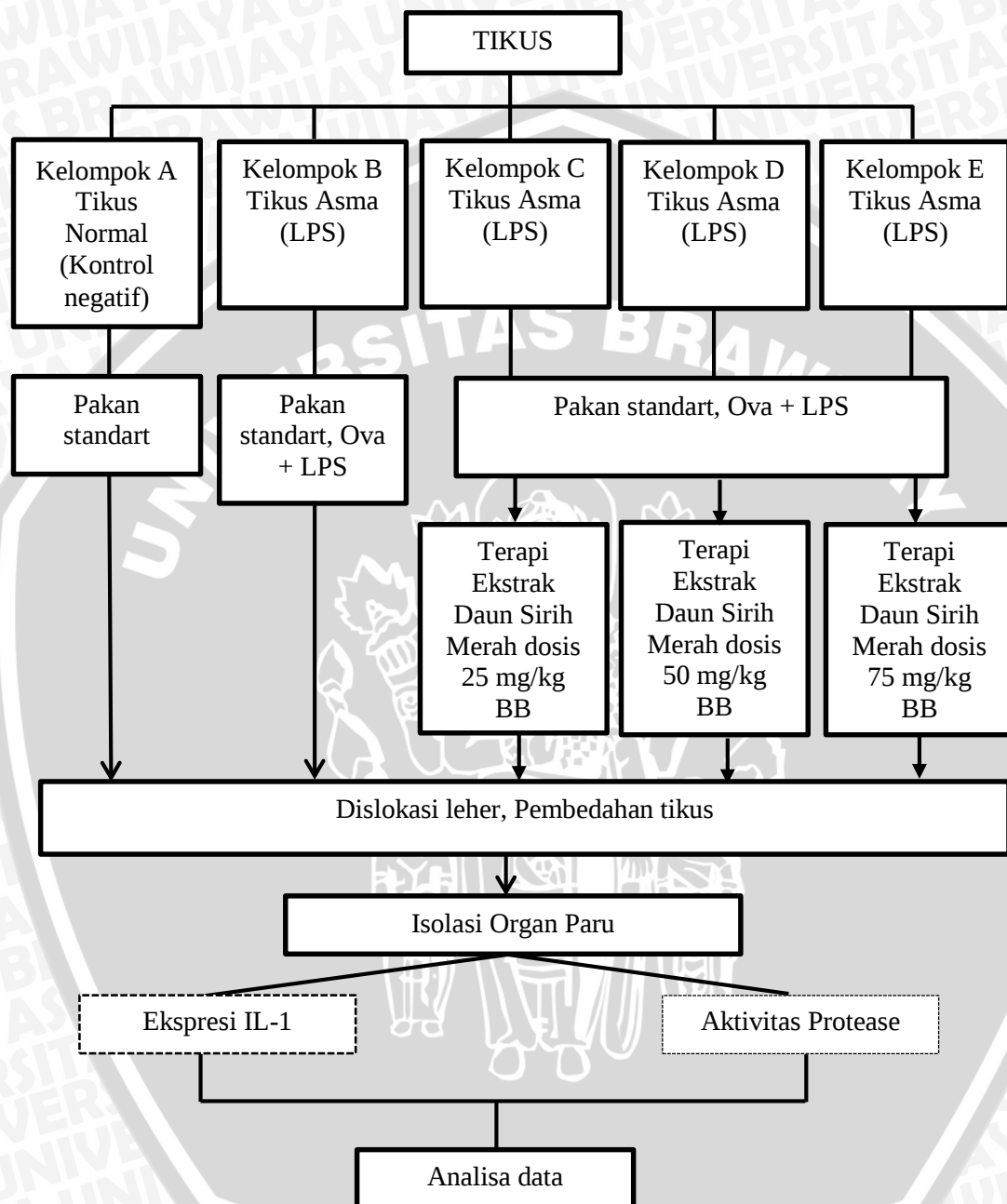
A. Rancangan Perlakuan



Keterangan

1. Injeksi OVA I, OVA II dan OVA III dilakukan secara intraperitoneal dengan dosis 10 $\mu\text{g/ml}$ dengan ajuvan ALOH3 dalam larutan PBS
2. Injeksi LPS dilakukan secara intrasulkuler di sulkus ginggiva tikus dengan dosis 1 $\mu\text{g/ml}$
3. Inhalasi OVA dilakukan dengan nebulasi OVA dalam larutan NaCl steril dengan dosis 1 $\mu\text{g/ml}$ selama 20 menit
4. Pada hari ke-21 untuk tikus kontrol sakit, 30 menit setelah inhalasi OVA, dilakukan pembedahan pada tikus untuk mengisolasi organ paru yang digunakan untuk pengukuran aktivitas protease dan ekspresi IL-1 jaringan paru.
5. Pada kelompok tikus C, D dan E pada hari ke-22 sampai hari ke- 35 dilakukan terapi dengan dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB serta 75 mg/kg BB.

B. Kerangka Oprasional



Keterangan: Parameter yang diamati =

Lampiran 3. Perhitungan Dosis

- Dosis eksperimental ditentukan berdasarkan penelitian Fitriyani dkk (2011) dengan modifikasi sehingga dosis yang digunakan dalam penelitian ini sebesar 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB, dan 75 mg/Kg BB. Dosis toksik pada ekstrak daun sirih merah sebesar 100 mg/Kg BB pada tikus.
- Total berat kering daun sirih yang digunakan sebesar 300 gram dan diekstraksi dengan menggunakan metanol sebanyak 2 L hingga dihasilkan ekstrak metanol daun sirih merah sebanyak 24 gram.
- Kapasitas lambung tikus 3-5 ml, sehingga pada penelitian ini kami memberikan volume pemberian terapi ekstrak daun sirih merah sebanyak 2 ml/ekor.

1. Dosis 1 = 25 mg/kgBB (Kelompok C)

- Perhitungan untuk dosis 25 mg/kg BB

Diketahui : Rata-rata berat badan tikus adalah 200 g atau 0,2 Kg

Dihitung : Dosis x Berat Badan = 25 mg/kg BB x 0,2 kg = 5 mg

- Perhitungan untuk satu kelompok perlakuan terapi 25 mg/kgBB

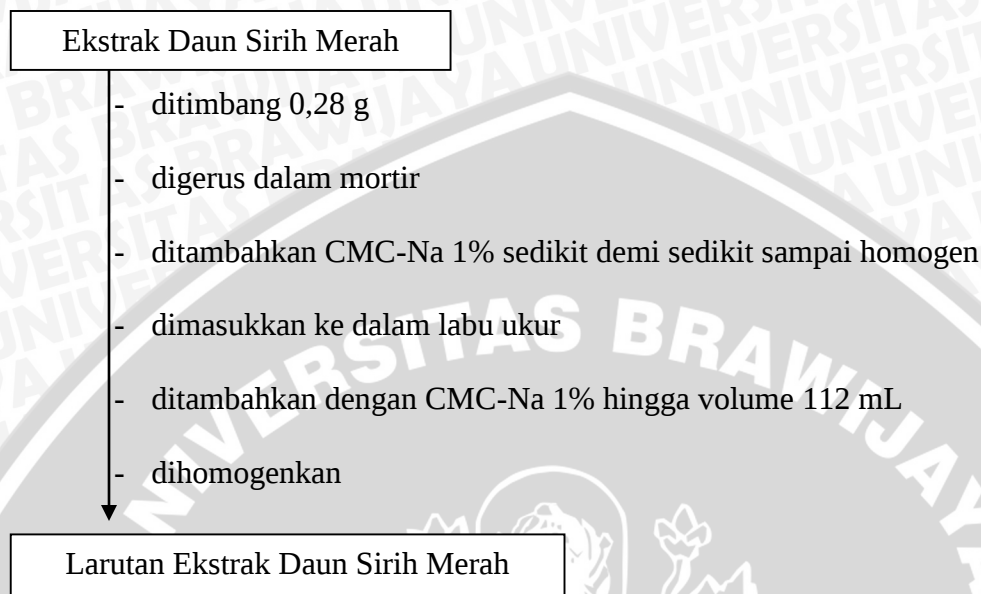
Diketahui : Jumlah kelompok terapi 25 mg/kg BB adalah 4 ekor

Terapi diberikan selama 14 hari

Dihitung : 5 mg x 4 x 14 = 280 mg = 0,28 g

- Volume pemberian sebanyak 2 ml/ekor/hari

Diagram Pengenceran



2. Dosis 2 = 50 mg/kgBB (Kelompok D)

- Perhitungan untuk dosis 50 mg/kgBB

Diketahui : Rata-rata berat badan tikus adalah 200 g atau 0,2 Kg

Dihitung : Dosis x Berat Badan = 50 mg/kg BB x 0,2 kg = 10 mg

- Perhitungan untuk satu kelompok perlakuan terapi 50 mg/kgBB

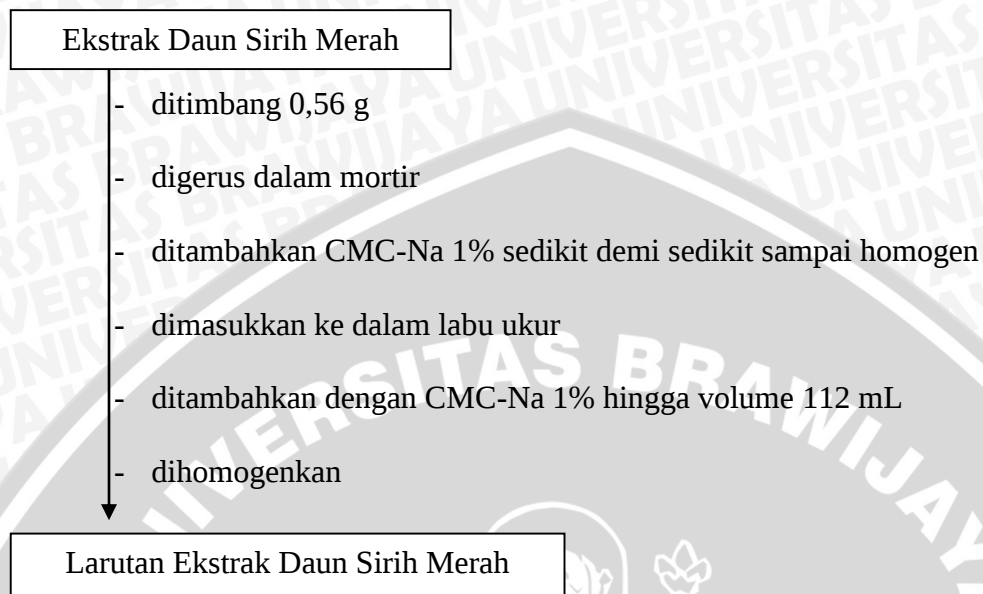
Diketahui : Jumlah kelompok terapi 50 mg/kg BB adalah 4 ekor

Terapi diberikan selama 14 hari

Dihitung : 10 mg x 4 x 14 = 560 mg = 0,56 g

- Volume pemberian sebanyak 2 ml/ekor/hari

Diagram Pengenceran



3. Dosis 3 = 75 mg/Kg BB (Kelompok E)

- Perhitungan untuk dosis 75 mg/kg BB

Diketahui : Rata-rata berat badan tikus adalah 200 g atau 0,2 Kg

Dihitung : Dosis x Berat Badan = 75 mg/kg BB x 0,2 kg = 15 mg

- Perhitungan untuk satu kelompok perlakuan terapi 75 mg/kg BB

Diketahui : Jumlah kelompok terapi 75 mg/kg BB adalah 4 ekor

Terapi diberikan selama 14 hari

Dihitung : 15 mg x 4 x 14 = 840 mg = 0,84 g

- Volume pemberian sebanyak 2 ml/ekor/hari

Diagram Pengenceran

Ekstrak Daun Sirih Merah

- ditimbang 0,84 g
- digerus dalam mortir
- ditambahkan CMC-Na 1% sedikit demi sedikit sampai homogen
- dimasukkan ke dalam labu ukur
- ditambahkan dengan CMC-Na 1% hingga volume 112 mL
- dihomogenkan

Larutan Ekstrak Daun Sirih Merah



Lampiran 4. Prosedur Pengukuran Aktivitas Protease

4.1 Pembuatan Larutan Stok Tirosin

0,025 g tirosin

- dilarutkan dengan 25 mL akuades
- diaduk dengan pengaduk magnetic
- dipindahkan dalam labu ukur 50 mL
- diencerkan hingga tanda batas
- diencerkan dengan aquades sampai tanda batas

Larutan stok tirosin 500 ppm

4.2 Pembuatan Larutan Baku Tirosin

4 mL Larutan baku tirosin 500 ppm

- dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL
- diencerkan dengan aquades sampai tanda batas

Larutan baku tirosin 20 ppm

- dipipet berturut-turut 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 mL
- dimasukkan masing-masing larutan kedalam labu ukur 10 mL
- diencerkan dengan aquades sampai tanda batas

Larutan baku tirosin 2,4,6,8,10,12,14,16,18,20 ppm

4.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Tirosin

Larutan baku tirosin 20 ppm

- diukur absorbansi pada λ maksimum tirosin

Panjang gelombang maksimum

4.4 Pembuatan Kurva Baku Tirosin

Larutan baku tirosin 2,4,6,8,10,12,14,16,18,20 ppm

- dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan dalam eppendorf
- diukur absorbansinya pada λ maksimum tirosin 200-300 nm

Kurva baku tirosin

4.5 Pembuatan Larutan Kasein

0,025 g kasein

- dilarutkan dengan 25 mL aquades
- diaduk dengan pengaduk magnetik
- dipindahkan dalam labu ukur 50 mL
- diencerkan hingga tanda batas
- diencerkan dengan aquades hingga tanda batas

Larutan stok kasein 500 ppm

4.6 Isolasi Protein

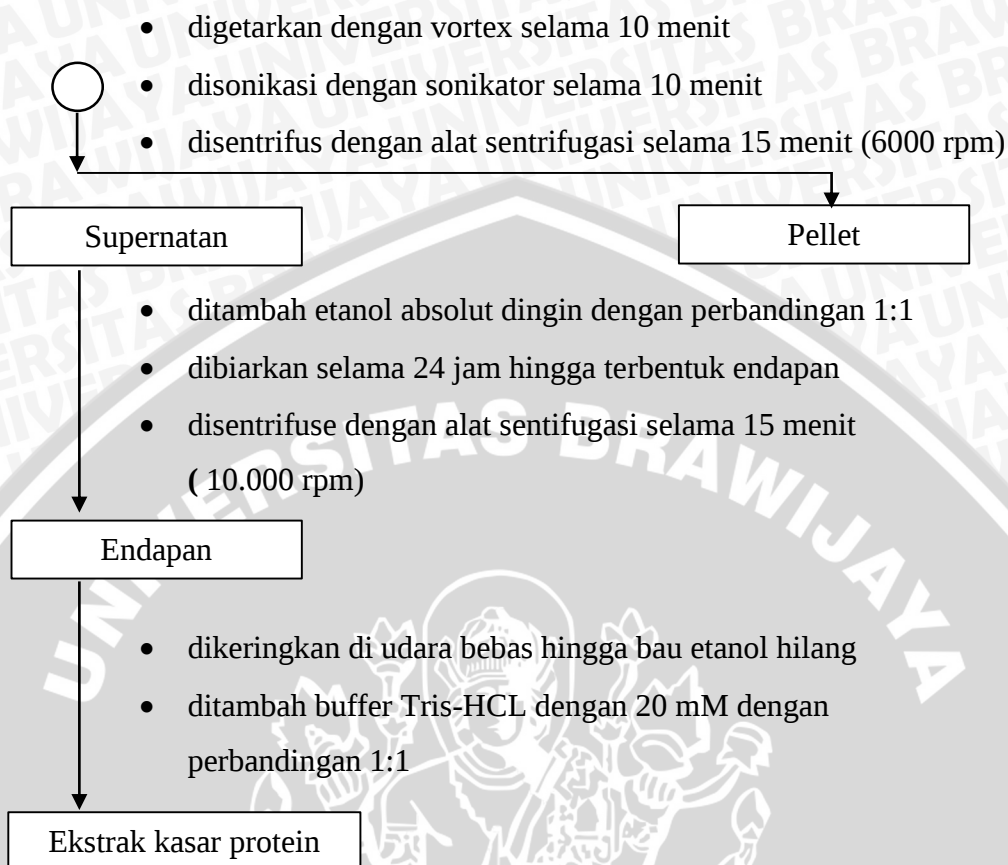
Organ paru

- dipotong kecil-kecil
- ditambah larutan PBST-PMSF sebanyak 5x volume sampel
- ditambah sedikit pasir kuarsa
- dihaluskan dengan mortar dalam kondisi dingin

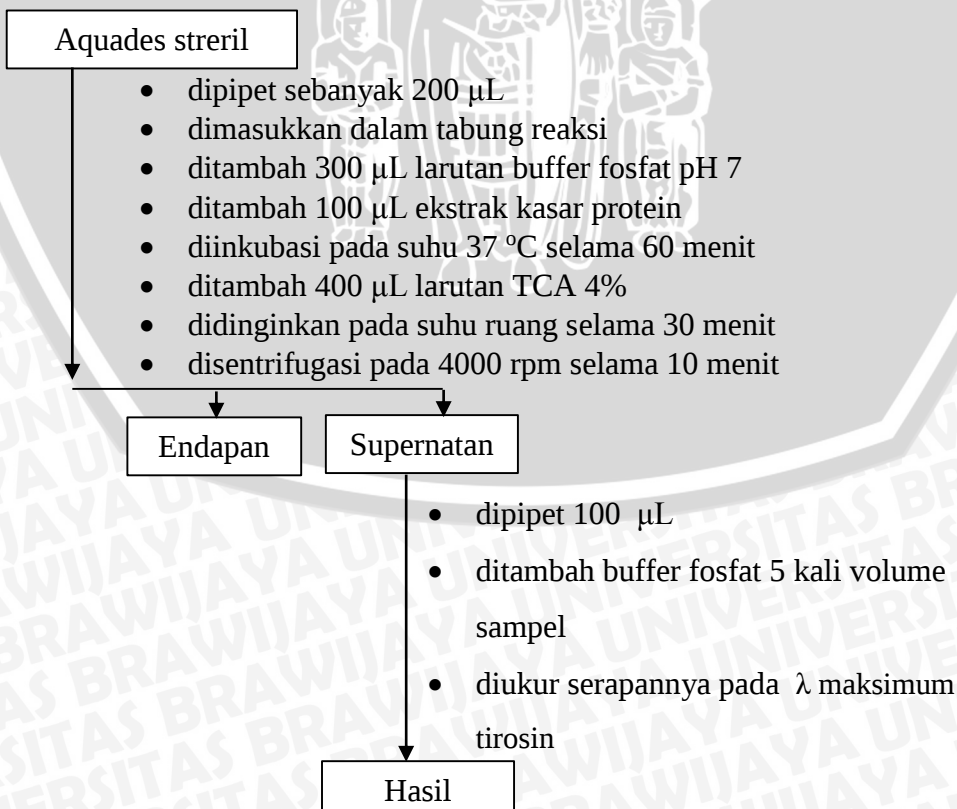
Homogenat

- dimasukkan dalam tabung polipropilen steril





4.7 Pembuatan Larutan Blangko



4.8 Pengukuran Aktivitas Protease

Larutan kasein 500 ppm

- dipipet 200 μL
- dimasukkan dalam tabung reaksi
- ditambah 300 μL larutan buffer fosfat pH 7
- ditambah 100 μL ekstrak kasar protein
- diinkubasi pada suhu 37 °C selama 60 menit
- ditambah 400 μL larutan TCA 4%
- didinginkan pada suhu ruang selama 30 menit
- disentrifugasi pada 4000 rpm selama 10 menit

Endapan

Supernatan

- dipipet 100 μL
- ditambah buffer fosfat 5 kali volume sampel
- diukur serapannya pada λ maksimum tirosin nm

Hasil

Lampiran 5. Prosedur Imunohistokimia

Preparat Paru

- Xylol I, Xylol II, alkohol bertingkat (100%,90%,80%,70%), Aquades 1x5 menit
- Dicuci PBS pH 7,4 selama 3x5 menit
- 3 % Hidrogen peroksida dalam diomizine water selama 20 menit
- Dicuci PBS pH 7,4 selama 3x5 menit
- FBS (*Fetal bovine serum*) 5 % dalam PBS , 30 menit
- Dicuci PBS pH7,4 selama 3 x 5menit
- (1:100) antibodi primer (anti rat TNF- α)24 jam pada suhu 4°C yang diencerkan dalam 1% BSA dalam PBS)
- Dicuci PBS pH 7,4 selama 3 x 5menit
- antibodi berlabel biotin (goat anti rat biotin labeled) 1 jam pada suhu ruang
- Dicuci PBS pH 7,4 selama 3 x 5menit
- SA-HRP (strep avidin-Horse radis peroxsidase) 30-60 menit pada suhu ruang
- Dicuci PBS pH 7,4 selama 3 x 5menit
- Cromogen DAB (3,3 – diaminobenzidine tetrahydrochloride) 10-20 menit pada suhu ruang
- Dicuci aquades selama 3 x 5menit
- *Counter stain* (Hematoksilin-eosin) 5 menit pada suhu ruang
- Dicuci aquades selama 3 x 5menit
- *Mounting* dengan entellan
- Pengamatan di bawah mikroskop

Preparat Paru

Lampiran 6. Data Statistika Ekspresi Interleukin-1 (IL-1)

Tabel 6.1 Uji homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.559	4	15	.082

$P > 0.05$

Data homogenitas

Tabel 6.2 Uji Statistik ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20428.757	4	5107.189	2139.585	.000
Within Groups	35.805	15	2.387		
Total	20464.562	19			

Tabel 6.3 Uji Lanjutan BNJ

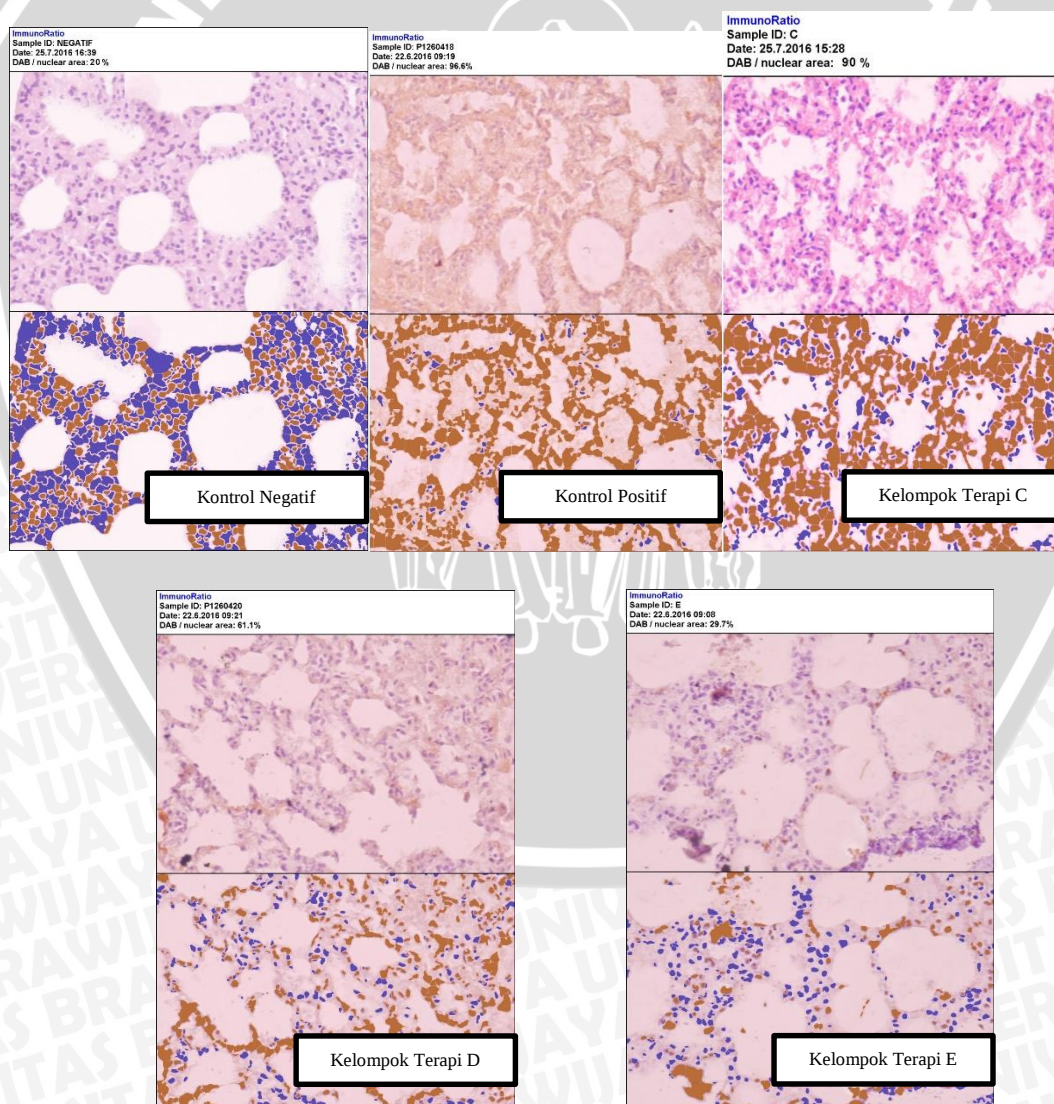
(I) group	(J) group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	kontrol positif	-77.87500 [*]	1.09247	.000	-81.2485	-74.5015
	terapi 25 mg/kg BB	-76.02500 [*]	1.09247	.000	-79.3985	-72.6515
	terapi 50 mg/kgBB	-44.45000 [*]	1.09247	.000	-47.8235	-41.0765
	terapi 75 mg/kg BB	-12.12500 [*]	1.09247	.000	-15.4985	-8.7515
kontrol positif	kontrol negatif	77.87500 [*]	1.09247	.000	74.5015	81.2485
	terapi 25 mg/kg BB	1.85000	1.09247	.466	-1.5235	5.2235
	terapi 50 mg/kgBB	33.42500 [*]	1.09247	.000	30.0515	36.7985
	terapi 75 mg/kg BB	65.75000 [*]	1.09247	.000	62.3765	69.1235
terapi 25 mg/kg BB	kontrol negatif	76.02500 [*]	1.09247	.000	72.6515	79.3985
	kontrol positif	-1.85000	1.09247	.466	-5.2235	1.5235
	terapi 50 mg/kgBB	31.57500 [*]	1.09247	.000	28.2015	34.9485
	terapi 75 mg/kg BB	63.90000 [*]	1.09247	.000	60.5265	67.2735
terapi 50 mg/kgBB	kontrol negatif	44.45000 [*]	1.09247	.000	41.0765	47.8235
	kontrol positif	-33.42500 [*]	1.09247	.000	-36.7985	-30.0515
	terapi 25 mg/kg BB	-31.57500 [*]	1.09247	.000	-34.9485	-28.2015
	terapi 75 mg/kg BB	32.32500 [*]	1.09247	.000	28.9515	35.6985
terapi 75 mg/kg BB	kontrol negatif	12.12500 [*]	1.09247	.000	8.7515	15.4985
	kontrol positif	-65.75000 [*]	1.09247	.000	-69.1235	-62.3765
	terapi 25 mg/kg BB	-63.90000 [*]	1.09247	.000	-67.2735	-60.5265
	terapi 50 mg/kgBB	-32.32500 [*]	1.09247	.000	-35.6985	-28.9515

$P < 0.05$

Tabel 6.4 Notasi pada Uji BNJ

group	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol negatif	4	17.3750			
terapi 75 mg/kg BB	4		29.5000		
terapi 50 mg/kgBB	4			61.8250	
terapi 25 mg/kg BB	4				93.4000
kontrol positif	4				95.2500
Sig.		1.000	1.000	1.000	.466

Lampiran 7. Immunoratio Ekspresi Interleukin-1 (IL-1)



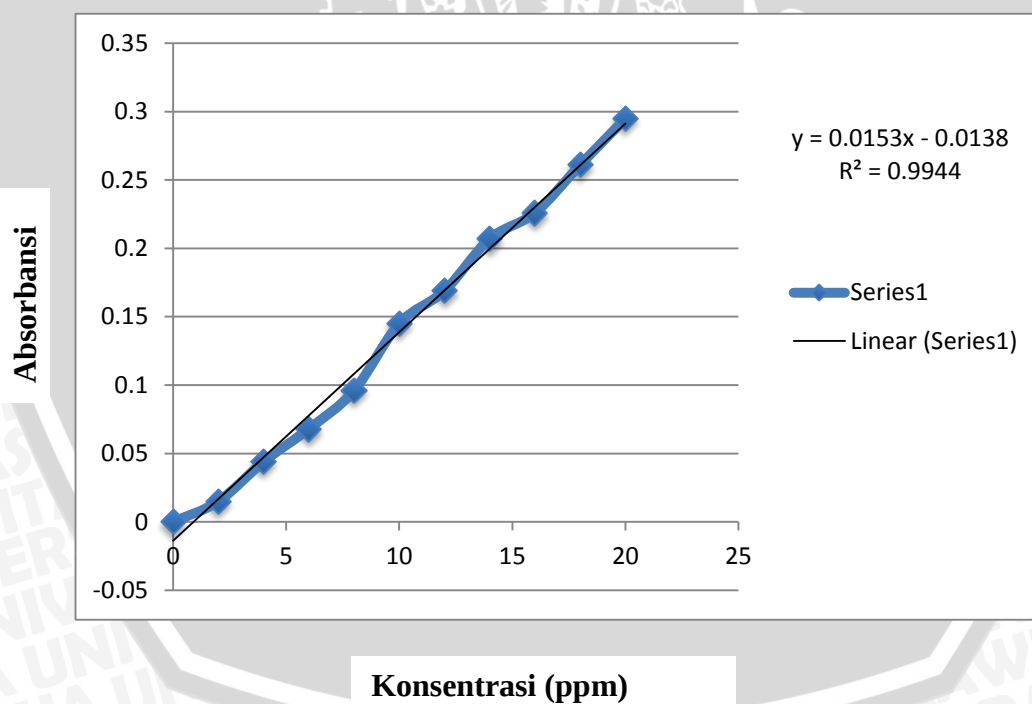
Lampiran 8. Data Absorbansi**Tabel 8.1** Absorbansi larutan standar tirosi 20 ppm

260	0,033
261	0,038
262	0,039
263	0,041
264	0,051
265	0,062
266	0,068
267	0,076
268	0,082
269	0,089
270	0,102
271	0,102
272	0,109
273	0,111
274	0,115
275	0,123
276	0,116
277	0,112
278	0,112
279	0,104
280	0,101
281	0,098
282	0,091
283	0,087
284	0,075
285	0,068
286	0,05
287	0,034
288	0,022
289	0,015
290	0,013



Tabel 8.2 Kurva Standar Tirosin λ 275 nm

Tirosin [ppm]	A rata-rata
0	0
2	0.015
4	0.044
6	0.068
8	0.096
10	0.145
12	0.169
14	0.207
16	0.226
18	0.261
20	0.295



Gambar 8.2 Kurva Standar Tirosin

Tabel 8.3 Data Absorbansi Tirosin

Kelompok	Absorbansi			
Kontrol Negatif (A)	0,335	0,341	0,392	0,35
Kontrol Positif (B)	0,711	0,66	0,657	0,73
Terapi 25 mg/Kg BB (C)	0,621	0,565	0,64	0,7
Terapi 50 mg/Kg BB (D)	0,59	0,42	0,511	0,441
Terapi 75 mg/Kg BB (E)	0,372	0,36	0,345	0,364

Lampiran 9. Perhitungan Aktivitas Protease

9.1 Rumus perhitungan

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{[\text{Tirosin}]}{\text{Mr Tirosin}} \times \frac{v}{p \times q} \times \text{fp}$$

Dimana :

- v = Volume total sampel (mL)
- q = Waktu inkubasi (menit)
- fp = Faktor pengenceran
- p = Jumlah enzim
- Mr = Berat molekul tirosin 181 µg/µmol

Satu unit aktivitas protease dinyatakan dengan banyaknya jumlah mikro mol yang terbentuk oleh 1 mL protease per menit

Tabel 9.1 Hasil Pengukuran Aktivitas Protease

Kelompok	Aktivitas Protease	Rata-rata	SD
Kontrol Negatif (A) 1	0,104960339		
Kontrol Negatif (A) 2	0,106765849	0,110828248	0,007748284
Kontrol Negatif (A) 3	0,122112688		
Kontrol Negatif (A) 4	0,109474115		
Kontrol Positif (B) 1	0.218306271		
Kontrol Positif (B) 2	0.203761881	0,211936831	0,01080594
Kontrol Positif (B) 3	0.201856065		
Kontrol Positif (B) 4	0.223823108		
Terapi 1 dosis 25 mg/kg BB (C)	0.191023002		
Terapi 1 dosis 25 mg/kg BB (C)	0.174372184	0,19523586	0,018357027
Terapi 1 dosis 25 mg/kg BB (C)	0.196740452		
Terapi 1 dosis 25 mg/kg BB (C)	0.218807801		
Terapi 2 dosis 50 mg/kg BB (C)	0.175676164		
Terapi 2 dosis 50 mg/kg BB (C)	0.131541465	0,150499324	0,020285614
Terapi 2 dosis 50 mg/kg BB (C)	0.157921978		
Terapi 2 dosis 50 mg/kg BB (C)	0.13685769		
Terapi 3 dosis 75 mg/kg BB (C)	0.116194626		
Terapi 3 dosis 75 mg/kg BB (C)	0.112483299	0,112558529	0,003487592
Terapi 3 dosis 75 mg/kg BB (C)	0.107869217		
Terapi 3 dosis 75 mg/kg BB (C)	0.113686973		

Lampiran 10. Data Statistika Aktivitas Protease

Tabel 10.1 Uji Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.840	4	15	.062

$P > 0,05$

Data Homogen

Tabel 10.2 Uji Statistik ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups (Combined)	.035	4	.009	46.009	.000
Linear Term Contrast	.001	1	.001	7.171	.017
Deviation	.033	3	.011	58.955	.000
Within Groups	.003	15	.000		
Total	.037	19			

$P < 0,05$

Tabel 10.3 Uji Lanjutan BNJ

Tukey HSD						
(I) group	(J) group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	kontrol positif	-.101109*	.009682	.000	-.13101	-.07121
	terapi dosis 25 mg/kg BB	-.084408*	.009682	.000	-.11431	-.05451
	terapi dosis 50 mg/kg BB	-.039671*	.009682	.007	-.06957	-.00977
	terapi dosis 75 mg/kg BB	-.001730	.009682	1.000	-.03163	.02817
kontrol positif	kontrol negatif	.101109*	.009682	.000	.07121	.13101
	terapi dosis 25 mg/kg BB	.016701	.009682	.449	-.01320	.04660
	terapi dosis 50 mg/kg BB	.061438*	.009682	.000	.03154	.09134
	terapi dosis 75 mg/kg BB	.099378*	.009682	.000	.06948	.12928
terapi dosis 25 mg/kg BB	kontrol negatif	.084408*	.009682	.000	.05451	.11431
	kontrol positif	-.016701	.009682	.449	-.04660	.01320
	terapi dosis 50 mg/kg BB	.044737*	.009682	.003	.01484	.07463
	terapi dosis 75 mg/kg BB	.082677*	.009682	.000	.05278	.11258
terapi dosis 50 mg/kg BB	kontrol negatif	.039671*	.009682	.007	.00977	.06957
	kontrol positif	-.061438*	.009682	.000	-.09134	-.03154
	terapi dosis 25 mg/kg BB	-.044737*	.009682	.003	-.07463	-.01484
	terapi dosis 75 mg/kg BB	.037941*	.009682	.010	.00804	.06784
terapi dosis 75 mg/kg BB	kontrol negatif	.001730	.009682	1.000	-.02817	.03163
	kontrol positif	-.099378*	.009682	.000	-.12928	-.06948
	terapi dosis 25 mg/kg BB	-.082677*	.009682	.000	-.11258	-.05278
	terapi dosis 50 mg/kg BB	-.037941*	.009682	.010	-.06784	-.00804

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabel 10.4 Pemberian Notasi pada BNJ

Tukey HSD^a

group	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol negatif	4	.11083		
terapi dosis 75 mg/kg BB	4	.11256		
terapi dosis 50 mg/kg BB	4		.15050	
terapi dosis 25 mg/kg BB	4			.19524
kontrol positif	4			.21194
Sig.		1.000	1.000	.449

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 11. Sertifikat laik etik

**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA****KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 516-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA****TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SIRIH
: MERAH (*Piper crocatum*) PADA TIKUS (*Rattus*
norvegicus) MODEL ASMA YANG DIINDUKSI
LIPOPOLISAKARIDA TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI ORGAN TRAKEA

PENELITI : GETTY AMURA LAFALI

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 13 April 2016

Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas BrawijayaProf. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 12. Dokumentasi Penelitian



Aklimatisasi hewan coba



Injeksi OVA secara intraperitoneal hari ke-1 dan 14



Injeksi LPS secara intrasulkuler pada hari ke 10- dan 11



Pemaparan ovalbumin pada hari ke-21 menggunakan nebulizer



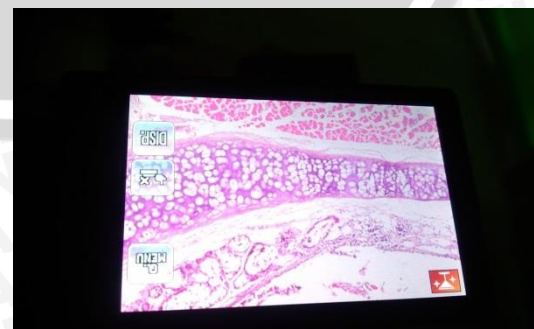
Pemberian terapi ekstrak daun sirih merah pada kelompok terapi secara per-oral selama 14 hari.



Pembedahan untuk mengambil organ paru-paru dan trakea pada semua kelompok.



Isolasi protein



Pengamatan Histopatologi