



UNIVERSITAS INDONESIA



**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS PRODUK PANGAN DARURAT
BPPT DENGAN IMUNOMODULATOR PHYLLANTHUS NIRURI
DALAM MENINGKATKAN IMUNITAS HEWAN COBA**

SKRIPSI

**SARI PURNAMA HIDAYAT
0806451536**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI KEDOKTERAN UMUM
JAKARTA
AGUSTUS 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS PRODUK PANGAN DARURAT
BPPT DENGAN IMUNOMODULATOR PHYLLANTHUS NIRURI
DALAM MENINGKATKAN IMUNITAS HEWAN COBA**

SKRIPSI

**SARI PURNAMA HIDAYAT
0806451536**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI KEDOKTERAN UMUM
JAKARTA
AGUSTUS 2011**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

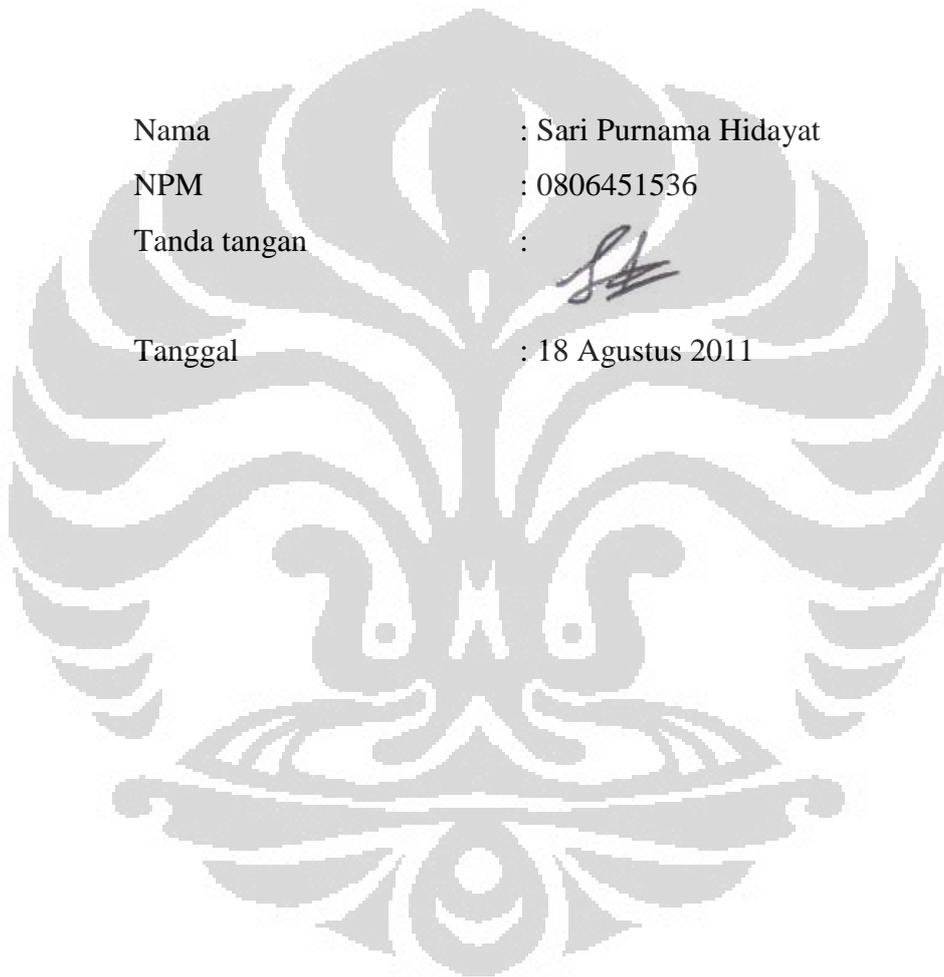
Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Sari Purnama Hidayat

NPM : 0806451536

Tanda tangan : 

Tanggal : 18 Agustus 2011



HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Sari Purnama Hidayat
NPM : 0806451536
Program Studi : Pendidikan Dokter Umum
Judul Skripsi : Perbandingan Efektivitas Produk Pangan Darurat BPPT dengan Imunomodulator Phyllanthus Niruri dalam Meningkatkan Imunitas Hewan Coba

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar sarjana pada Program Pendidikan Dokter Umum Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Prof. Dr. dr. Purwastyastuti, Sp.FK, MSc

Penguji : Prof. Dr. dr. Purwastyastuti, Sp.FK, MSc

Penguji : Prof. Dr. dr. Rianto Setiabudi, Sp.FK

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 18 Agustus 2011

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas berkat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini disusun dalam rangka mencapai gelar sarjana kedokteran pada Program Pendidikan Dokter Umum Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Penulis menyadari tanpa kerja keras serta bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak, tidaklah mungkin penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. dr. Purwastyastuti, Sp.FK, MSc selaku pembimbing penelitian ini, juga Dr. Alida Harahap, Sp.PK, PhD selaku narasumber penelitian ini. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada Dr. dr. Saptawati Bardosono, MSc, sebagai Ketua Modul Riset FKUI yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melaksanakan penelitian ini. Tidak lupa, ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Ibu Lin Gustina, Bapak Dede, Ibu Nia, serta para staf yang terlibat dalam penelitian ini. Akhirnya, penulis mengucapkan penghargaan yang tak terhingga kepada orang tua dan keluarga yang memberikan dukungan material dan moral.

Penulis menyadari skripsi ini masih terdapat kekurangan. Penulis berharap penelitian ini dapat terus dikembangkan. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Jakarta, Agustus 2011



Sari Purnama Hidayat

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sari Purnama Hidayat

NPM : 0806451536

Program Studi : Pendidikan Dokter Umum

Fakultas : Kedokteran

Jenis karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif (*Non-Exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul: ” Perbandingan Efektivitas Produk Pangan Darurat BPPT dengan Imunomodulator *Phyllanthus Niruri* dalam Meningkatkan Imunitas Hewan Coba” beserta perangkat yang ada (bila diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 18 Agustus 2011

Yang menyatakan,



Sari Purnama Hidayat

ABSTRAK

Nama : Sari Purnama Hidayat
Program Studi : Pendidikan Dokter Umum
Judul : Perbandingan Efektivitas Produk Pangan Darurat BPPT dengan Imunomodulator *Phyllanthus niruri* dalam Meningkatkan Imunitas Hewan Coba

Bahan pangan darurat BPPT merupakan makanan padat gizi berbentuk biskuit yang dikemas secara tertutup untuk dikirimkan ke tempat-tempat bencana alam. Dalam bahan pangan tersebut terkandung polifenol yang telah terbukti secara invitro dapat meningkatkan respon imun. Untuk dapat mengaplikasikan dalam kehidupan masyarakat, bahan ini perlu melalui uji eksperimental hewan coba terlebih dahulu. Uji eksperimental yang dilakukan terhadap 30 ekor mencit yang dibuat lapar. Setelah dua minggu berada dalam kondisi kelaparan, enam ekor mencit diambil datanya, mencit lainnya kemudian dibagi ke dalam dua kelompok perlakuan, yaitu kelompok yang diberi produk pangan darurat BPPT dan kelompok yang diberi imunomodulator *Phyllanthus niruri*, suatu produk imunomodulator yang telah di pasarkan di Indonesia. Enam mencit dari masing-masing kelompok diperiksa setelah mendapat perlakuan selama dua dan empat minggu. Pada penelitian ini tidak ditemukan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) pada perbandingan perubahan jumlah leukosit, limfosit, netrofil segmen, dan jumlah IgG total antara mencit yang mendapat asupan pangan darurat BPPT dengan mencit yang mendapat asupan *Phyllanthus niruri* baik selama dua dan empat minggu. Oleh sebab itu, peneliti menyimpulkan bahwa produk pangan darurat BPPT memiliki efek yang sama baiknya dengan *Phyllanthus niruri* dalam meningkatkan respon imun mencit kelaparan dengan indikator jumlah leukosit, perubahan hitung jenis, dan jumlah IgG total setelah pemakaian dua maupun empat minggu.

Kata kunci:

BPPT, Imunomodulator, *Phyllanthus niruri*, Polifenol, Respon imun

ABSTRACT

Name : Sari Purnama Hidayat
Study Program : General Medicine
Title : Comparative Effectiveness of BPPT Food Product with Immunomodulatory *Phyllanthus niruri* in Enhance Immunity of Animal Trial

BPPT emergency food is nutrient-rich cookies which are packaged in a closed session to be sent to places of natural disasters. This product contains polyphenol that has been shown to enhance immunity response in in-vitro experimentation. In order to be applicable in public life, this product needs to be experimented on animals. Experimental tests were conducted on thirty mice which were made to be hungry. After two weeks in a state of starvation, six mice were taken to be examined, while the rest were divided into two groups, one group was given BPPT emergency food and the other group was given *Phyllanthus niruri*, an immunomodulator which has been marketed in Indonesia. After two weeks, six mice from each group were taken for examination and the rest were examined two weeks after the first test. The result found no significant difference ($p > 0.05$) on changes number of leukocytes, lymphocytes, neutrophils segments, and total IgG between mice that received BPPT emergency food and mice that received *Phyllanthus niruri* after being treated for two and four weeks. Therefore, researchers concluded that the BPPT emergency food products has similar effect with *Phyllanthus niruri* in enhancing starving mice immunity response, indicated by the number of leukocytes, differential count of leukocyte, and total amount of IgG.

Keywords:
BPPT, Immunity response, *Phyllanthus niruri*, Polyphenol,

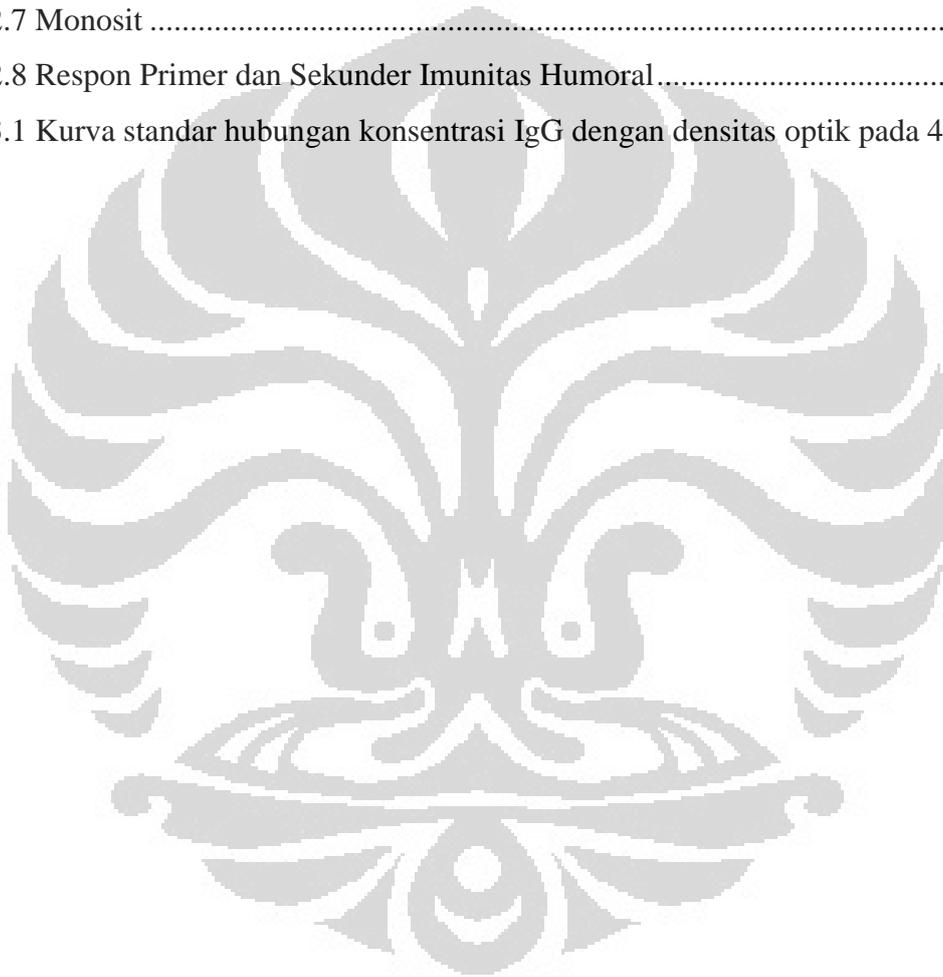
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GRAFIK.....	xii
DAFTAR DIAGRAM.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
1.PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Hipotesis	3
1.4. Tujuan Penelitian	3
1.4.1. Tujuan Umum.....	3
1.4.2. Tujuan Khusus	3
1.5. Manfaat Penelitian	3
1.5.1. Bagi peneliti.....	3
1.5.2. Bagi perguruan tinggi	4
1.5.3. Bagi masyarakat.....	4
1.5.4. Bagi pemerintah.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Bencana Alam.....	5
2.1.1. Bencana Alam di Indonesia	5
2.1.2. Pengaruh Bencana Alam.....	6
2.1.2.1.Stress	6
2.1.2.2.Malnutrisi	8
2.2. Imunitas.....	10
2.2.1. Pengertian dan Klasifikasi	10
2.2.2. Imunitas Natural.....	10
2.2.3. Imunitas Adaptif.....	11
2.2.3.1.Respon Imun Selular	12
2.2.3.2.Respon Imun Humoral	13
2.3. Imunostimulasi.....	15
2.3.1. Polifenol.....	15
2.3.2. <i>Phyllanthus niruri</i>	17
2.4. Produk Pangan BPPT.....	18
2.5. Protokol Uji Efektivitas	18
2.5.1. Metode.....	18

2.5.2. Deskripsi Prosedur Tes	19
2.5.2.1.Persiapan	19
2.5.2.2.Hewan Percobaan.....	19
2.5.2.3.Jumlah dan Jenis Kelamin.....	21
2.5.2.4.Kondisi Kandang.....	21
2.5.3. Prosedur	21
2.5.3.1.Pengukuran Dosis	21
2.5.3.2.Pemeriksaan Klinis.....	22
2.5.3.3.Pemeriksaan Parameter Penelitian	22
2.6. Kerangka Konsep.....	29
3. METODE PENELITIAN	30
3.1. Desain Penelitian	30
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian.....	30
3.3. Sampel Penelitian.....	30
3.3.1. Jenis dan Besar Sampel	30
3.3.2. Pemilihan Sampel	31
3.3.3. Pengelolaan Kandang Hewan	31
3.4. Cara Kerja	31
3.5. Identifikasi Variabel.....	32
3.5.1. Variabel Bebas	32
3.5.2. Variabel Terikat	32
3.6. Cara Pengambilan Data.....	33
3.6.1. Menghitung <i>Differential Leucocyte</i>	33
3.6.2. Pemeriksaan Jumlah IgG Total	34
3.7. Rencana Manajemen dan Analisis Data	40
3.8. Definisi Operasional	41
3.9. Masalah Etika.....	41
4. HASIL PENELITIAN	42
4.1. Keadaan Umum	42
4.2. Parameter Respon Imun	43
4.2.1. Lekosit.....	44
4.2.1.1.Jumlah Lekosit	44
4.2.1.2.Jenis Lekosit.....	46
4.2.2. Immunoglobulin G	49
5. KESIMPULAN DAN SARAN	52
6.1. Kesimpulan	52
6.2. Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA	53

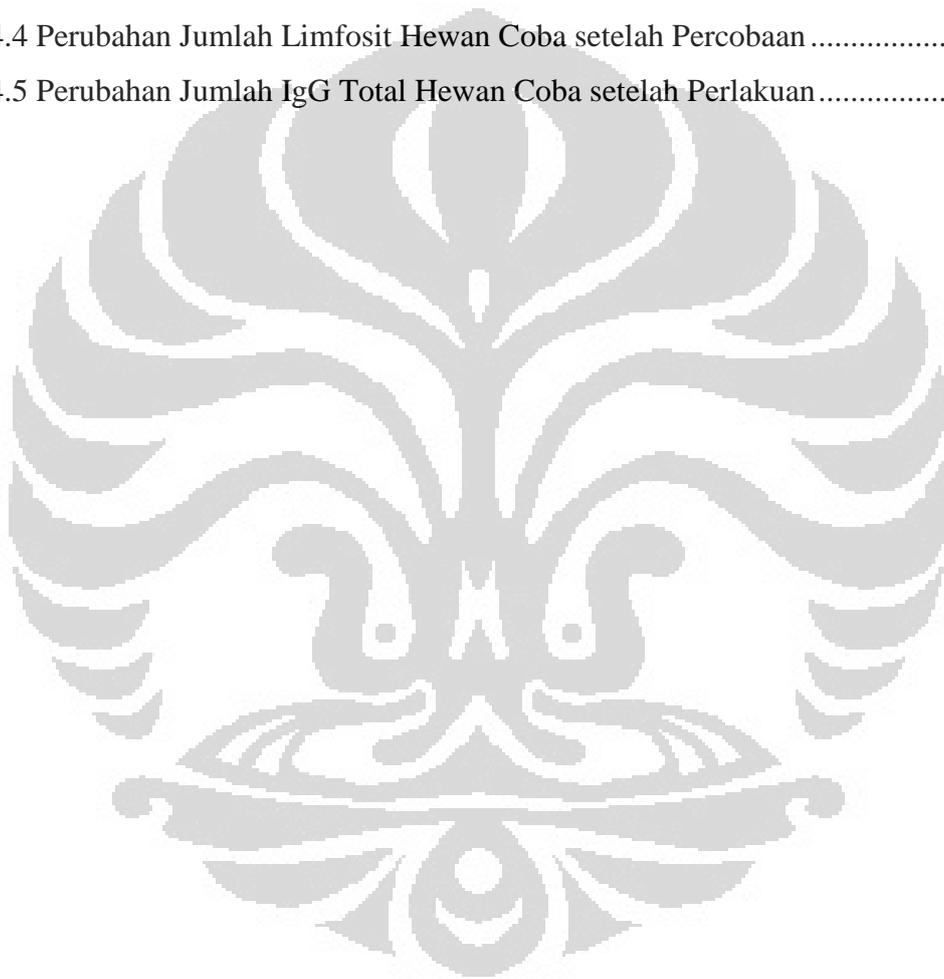
DAFTAR GAMBAR

2.1 Mencit Strain Balb/C	20
2.2 Netrofil Segmen	23
2.3 Netrofil Batang.....	24
2.4 Eosinofil	24
2.5 Basofil	25
2.6 Limfosit.....	25
2.7 Monosit	26
2.8 Respon Primer dan Sekunder Imunitas Humoral.....	28
3.1 Kurva standar hubungan konsentrasi IgG dengan densitas optik pada 450 nm.....	40



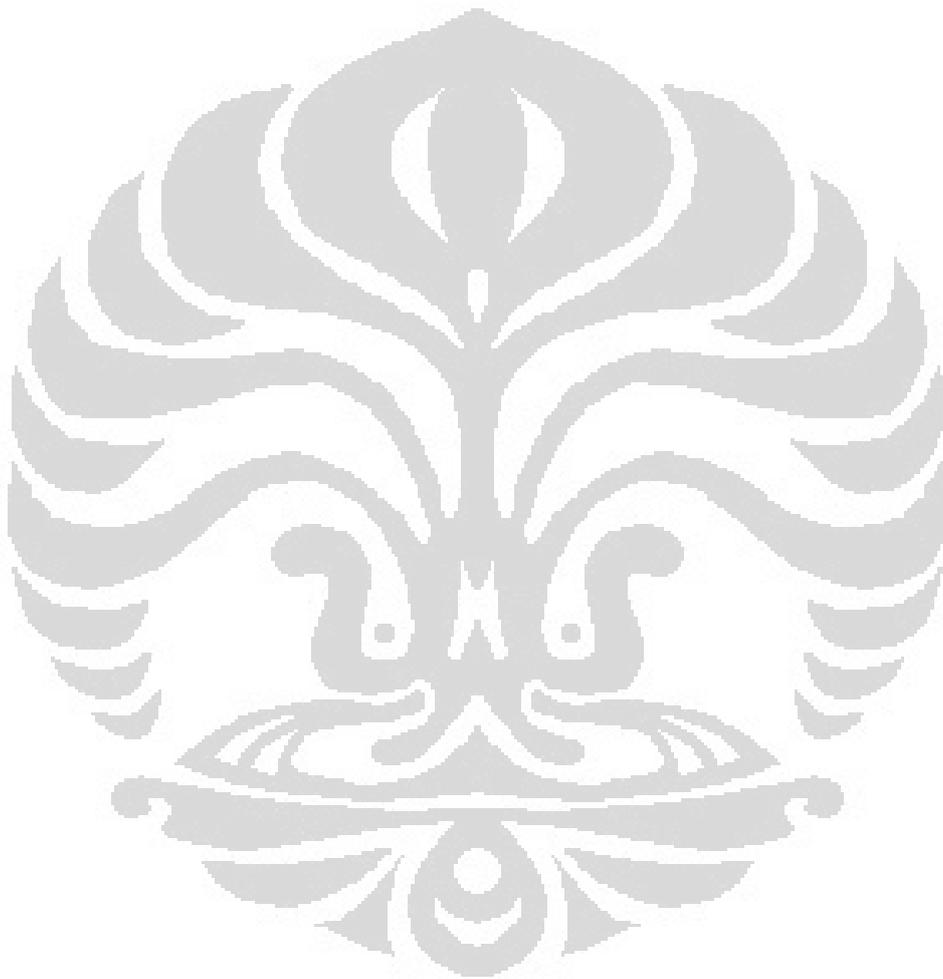
DAFTAR TABEL

2.1 Parameter Berat Badan, Hematologi dan Biokimia Mencit Balb/C	20
2.2 Kisaran Ukuran Kandang untuk Hewan Coba	21
3.1 Hubungan konsentrasi IgG dengan densitas optik pada 450 nm	39
4.1 Perubahan Berat Badan Mencit.....	43
4.2 Perubahan Jumlah Lekosit Hewan Coba setelah Perlakuan	45
4.3 Perubahan Jumlah Netrofil Segmen Hewan Coba setelah Perlakuan	47
4.4 Perubahan Jumlah Limfosit Hewan Coba setelah Percobaan	48
4.5 Perubahan Jumlah IgG Total Hewan Coba setelah Perlakuan.....	50



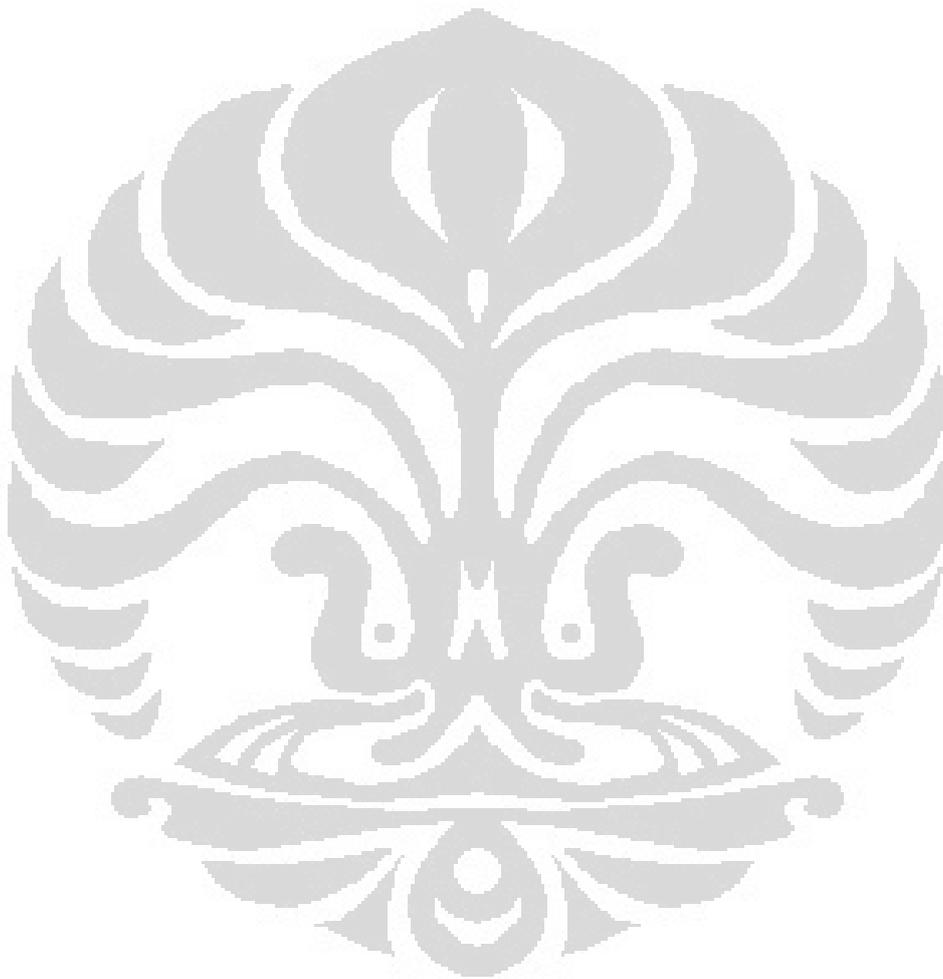
DAFTAR GRAFIK

4.1 Berat Badan Mencit pada Kelompok Uji dan Kelompok Pembanding dalam 2 Minggu Perlakuan	42
4.2 Berat Badan Mencit pada Kelompok Uji dan Kelompok Pembanding dalam 4 Minggu Perlakuan	42



DAFTAR DIAGRAM

4.1 Sebaran Jumlah Lekosit	44
4.2 Sebaran Hitung Jenis Absolut Netrofil Segmen.....	46
4.3 Sebaran Hitung Jenis Absolut Limfosit	48
4.4 Sebaran Jumlah IgG Total.....	49

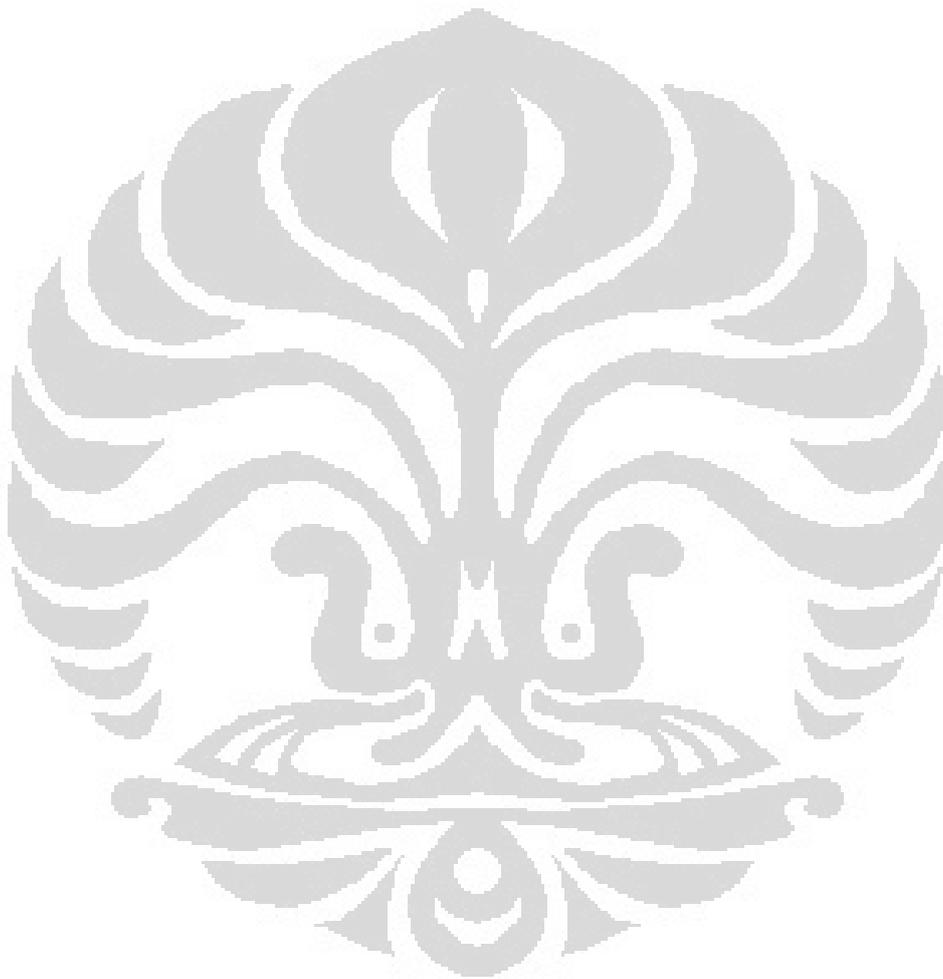


DAFTAR SINGKATAN

APC	<i>Antigen Presenting Cell</i>
c-GMP	<i>Current-Good Manufacturing Practices</i>
CPOB	Cara Pembuatan Obat yang Baik
GAP	<i>Good Agriculture Practices</i>
HPA	<i>Hypothalamic Pituitary Adrenal</i>
HRP	<i>Horseradish Peroksidase</i>
IgM	Imunoglobulin tipe M
IgG	Imunoglobulin tipe G
IgA	Imunoglobulin tipe A
IL	Interleukin
KLPU	Kelompok Lapar yang diberi Pakan Uji
KLPP	Kelompok Lapar yang diberi Pakan Pembanding
NK	<i>Natural Killer</i>
PEM	<i>Protein Energy Malnutrition</i>
SD	Standar Deviasi
WIB	Waktu Indonesia bagian Barat

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Etik Penelitian.....	58
Lampiran 2. Hasil Penelitian.....	59
Lampiran 3. Analisis SPSS	62
Lampiran 4 Curriculum Vitae	75



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sistem pertahanan tubuh adalah kemampuan tubuh untuk menahan atau mengeliminasi benda asing atau sel abnormal yang berbahaya bagi tubuh.¹ Sistem pertahanan tubuh berperan dalam menentukan kerusakan atau penyakit yang mungkin terjadi akibat pajanan mikroorganisme patogen. Sekelompok individu yang mendapatkan pajanan pathogen yang sama belum tentu menghasilkan respon pertahanan tubuh yang sama, sebab kemampuan respon ini dipengaruhi berbagai faktor baik dari dalam maupun dari luar. Faktor intrinsik yang mempengaruhi respon pertahanan tubuh, antara lain faktor metabolik, faktor sawar anatomik, faktor sawar fisiologik, dan faktor umur.^{2,3} Sedangkan faktor ekstrinsik yang mempengaruhi respon pertahanan tubuh, antara lain: faktor lingkungan, faktor gizi dan obat-obatan yang dikonsumsi (obat-obat immunosupresan dan obat-obat immunostimulan), dan faktor mikroba.³

Berbagai upaya dapat ditempuh untuk meningkatkan kemampuan respon pertahanan tubuh, seperti dengan melakukan imunisasi atau dengan mengusahakan immunopotensiasi.² Imunisasi adalah pemberian kekebalan tubuh terhadap suatu penyakit dengan memasukkan mikroorganisme atau bagian dari mikroorganisme atau antibodi terhadap suatu mikroorganisme ke dalam tubuh sehingga seseorang yang telah diimunisasi memiliki resiko terkena penyakit lebih rendah karena telah memiliki antibodi terhadap mikroorganisme tersebut.⁴ Sedangkan, immunostimulan merupakan zat yang berperan secara nonspesifik dalam meningkatkan sistem pertahanan tubuh. Immunostimulan bekerja dengan mengaktivasi sistem komplemen, menstimulasi proliferasi dan diferensiasi fagosit (sel granulosit dan sel makrofag), serta menstimulasi pembentukan limfosit melalui pengaruhnya pada organ limfoid primer dan sekunder (limpa dan nodus limfe).⁵ Dengan mengonsumsi immunostimulan, diharapkan individu memiliki respon pertahanan tubuh yang lebih baik dibandingkan dengan individu yang tidak mengonsumsi saat terpajan patogen.

Bencana alam akhir-akhir ini sering menimpa Indonesia. Korban bencana alam yang diungsikan di tempat pengungsian seringkali menderita stres dan kelaparan. Adanya stress, kelaparan, serta kondisi lingkungan pengungsian darurat yang padat dan kurang higienis menyebabkan para korban bencana rentan terkena penyakit. Penyakit seperti yang telah dijelaskan di atas dapat terjadi bila daya tahan pejamu tidak baik. Terjadinya wabah penyakit di daerah bencana tentu akan menjadi masalah tambahan bagi pemerintah. Di samping menutupi kerugian-kerugian yang timbul akibat bencana, pemerintah juga harus mengirimkan bantuan pelayanan kesehatan ke daerah bencana yang seringkali sulit di jangkau.

Untuk itu, pemerintah, dalam hal ini BPPT, hendak mengeluarkan suatu produk pangan baru yang di dalamnya terdapat zat aktif, polifenol, yang diduga mampu meningkatkan respon pertahanan tubuh pada manusia. Bahan pangan ini diproduksi sebagai bahan pangan darurat untuk mencegah terjadinya kelaparan berkelanjutan. Produk pangan darurat BPPT merupakan produk pangan padat gizi yang berbentuk biskuit yang dikemas secara tertutup sehingga praktis untuk dikirimkan ke daerah-daerah bencana. Dengan demikian diharapkan produk ini dapat cepat dikirimkan ke daerah bencana sebelum bahan pangan utama dapat tiba di daerah tersebut.

Untuk dapat mengaplikasikan produk pangan darurat BPPT, diperlukan suatu penelitian untuk menguji efektivitas produk tersebut. Adapun penelitian mengenai efektivitas perlu dilakukan dahulu pada hewan coba sebelum diberikan pada manusia. Sebagai pembanding, peneliti menggunakan *Phyllanthus niruri*, salah satu imunomodulator yang telah dipasarkan di Indonesia. Dengan demikian, penelitian dengan judul “Perbandingan Efektivitas Produk Pangan Darurat BPPT dengan Imunomodulator *Phyllanthus niruri* dalam Meningkatkan Imunitas Hewan Coba” dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pertahanan tubuh hewan coba kelaparan yang diberi produk pangan darurat BPPT?

1.3 Hipotesis

Respon pertahanan tubuh hewan coba kelaparan yang diberi produk pangan darurat BPPT tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan respon pertahanan tubuh hewan coba kelaparan yang diberi pangan biasa dan imunomodulator *Phyllanthus niruri*.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Mengetahui respon pertahanan tubuh hewan coba kelaparan yang diberi produk pangan darurat BPPT dibandingkan dengan hewan coba kelaparan yang diberi pangan biasa dan imunomodulator *Phyllanthus niruri*.

1.4.2 Tujuan Khusus

- 1.4.2.1 Mengetahui perubahan jumlah leukosit hewan coba kelaparan yang diberi produk pangan darurat BPPT dibandingkan dengan hewan coba kelaparan yang diberi imunomodulator *Phyllanthus niruri*.
- 1.4.2.2 Mengetahui perubahan hitung jenis leukosit hewan coba kelaparan yang diberi produk pangan darurat BPPT dibandingkan dengan hewan coba kelaparan yang diberi imunomodulator *Phyllanthus niruri*.
- 1.4.2.3 Mengetahui perubahan jumlah total IgG pada hewan coba kelaparan yang diberi produk pangan darurat BPPT dibandingkan dengan hewan coba kelaparan yang diberi imunomodulator *Phyllanthus niruri*.

1.5 Manfaat Penelitian

- 1.5.1 Bagi peneliti

- a. Memperoleh pengalaman belajar dan pengetahuan dalam menganalisis masalah kesehatan dan melakukan penelitian.
- b. Mengembangkan daya nalar, analisis, minat, dan kemampuan dalam bidang penelitian.
- c. Mengaplikasikan ilmu tentang penelitian yang didapat selama ini.

1.5.2 Bagi perguruan tinggi

- a. Sebagai perwujudan Tri Dharma Perguruan Tinggi.
- b. Mewujudkan visi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia 2010 sebagai universitas riset FKUI 2014
- c. Sarana dalam menjalin kerjasama antara staf pengajar, mahasiswa, pimpinan fakultas, dan universitas.

1.5.3 Bagi masyarakat

Menambahkan pengetahuan masyarakat mengenai produk pangan darurat yang juga mempunyai efek meningkatkan sistem pertahanan tubuh.

1.5.4 Bagi pemerintah

Memberi saran pada pemerintah agar menggunakan produk pangan darurat yang mudah diberikan serta mempunyai efek meningkatkan sistem pertahanan tubuh sebagai bantuan pangan pertama pada korban bencana.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bencana Alam

2.1.1 Bencana Alam di Indonesia

Indonesia merupakan negara maritim beriklim tropis. Menurut letak geografisnya, Indonesia terletak di antara dua benua, yaitu Asia dan Australia, dan dua samudera, yaitu Samudera Pasifik dan Samudera Hindia. Sedangkan menurut letak geologisnya, kepulauan Indonesia terletak pada pertemuan lempeng litosfer, yaitu lempeng Asia dan lempeng Australia, serta dilalui dua rangkaian pegunungan, yaitu Sirkum Pasifik dan Sirkum Mediterania.⁶

Berdasarkan letaknya di muka bumi, Indonesia termasuk negara dengan curah hujan dan kelembaban yang tinggi sepanjang tahun. Keberadaan dua rangkaian pegunungan mengakibatkan wilayah Indonesia banyak dijumpai gunung merapi yang menyebabkan wilayah Indonesia menjadi subur sekaligus rentan terhadap bencana gunung meletus. Sementara letaknya pada pertemuan dua lempeng litosfer menyebabkan wilayah Indonesia sering sekali mengalami gempa bumi bahkan tsunami akibat pergeseran lempeng bumi.⁶

Menurut survey yang dilakukan oleh World Vision Asia Pasifik, bencana alam yang terjadi di Indonesia mendapat urutan ke 37 dari 204 negara di dunia dengan tingkat resiko yang ekstrim dan nilai indeks bencana alam 2,48.⁷ Bencana alam ini disebabkan baik karena kekuatan alam maupun campur tangan manusia. Seperti bencana tsunami yang terjadi pada tahun 2004 di Sumatera Utara, serta gempa bumi di Jogjakarata tahun 2006, keduanya terjadi akibat pergerakan lempeng bumi; meletusnya gunung-gunung yang masih aktif seperti Gunung Merapi yang terletak di Jawa Tengah, Gunung Tambora yang terletak di Pulau Sumbawa, Gunung Krakatau yang terletak di Selat Sunda, Gunung Kelud yang terletak di Jawa Timur, Gunung Galunggung yang terletak di Tasik

Malaya, serta gunung api lainnya yang masih aktif; belum lagi bencana hujan badai, banjir, dan tanah longsor yang terjadi akibat perubahan cuaca serta adanya campur tangan manusia.^{7,8}

2.1.2 Pengaruh Bencana Alam

Terjadinya bencana alam membawa berbagai dampak, diantaranya stres dan malnutrisi. Stres akibat bencana dapat terjadi karena korban mengalami syok setelah kehilangan anggota keluarga atau kerabat, tempat tinggal, harta benda, atau mengalami penyakit serta kecacatan akibat bencana. Sedangkan malnutrisi dapat terjadi akibat keterbatasan dan keterlambatan kiriman bantuan makanan. Kedua keadaan di atas dapat menyebabkan terjadinya penurunan sistem pertahanan tubuh sehingga menyebabkan para korban bencana rentan terhadap berbagai penyakit.

2.1.2.1 Stres

Berdasarkan taksonomi, stres yang terjadi akibat bencana termasuk dalam kategori *Stressful event sequence*, yaitu stres yang mengikuti suatu kejadian, seperti bencana alam. Meskipun stressor hanya terjadi dalam suatu kejadian, namun individu yang mengalaminya belum mengetahui jangka waktu dimana tantangan/stressor tersebut akan berakhir di kemudian hari.⁹ Seseorang dinyatakan mengalami gangguan stress apabila dirinya mengalami suatu kejadian atau stressor yang melampaui kapasitas hidupnya serta menimbulkan rasa menderita. Gejala-gejala stress ini timbul akibat respon biologik dan psikologik seorang individu. Terpaparnya seseorang oleh suatu stressor akan menimbulkan respon takut sebagaimana dirinya menilai kondisi keberbahayaan peristiwa yang dialaminya sehingga kemudian menyusun suatu respon perilaku yang sesuai.¹⁰

Dalam menghadapi stress berbagai sistem tubuh akan teraktivasi guna meningkatkan denyut jantung, tekanan darah, aliran darah, serta suplai glukosa sehingga tubuh siap menghadapi berbagai ancaman yang datang. Namun, selain menguntungkan bagi tubuh sistem tubuh yang

teraktivasi tersebut juga membawa dampak dalam menurunkan respon imunitas individu yang bersangkutan.

Salah satu penyebab menurunnya imunitas seseorang saat stress adalah rangsangan saraf simpatis. Saraf simpatis yang teraktivasi untuk meningkatkan kewaspadaan ternyata memiliki pengaruh terhadap sistem imun yaitu sumsum tulang dan timus secara primer serta jaringan limfoid secara sekunder ([Felten & Felten, 1994](#)). Rangsangan saraf simpatis menyebabkan terlepasnya berbagai substansi. Substansi tersebut memengaruhi respon imun dengan membentuk ikatan terhadap reseptor-reseptor pada sel darah putih. ([Ader, Cohen, & Felten, 1995](#); [Felten & Felten, 1994](#); [Kemeny, Solomon, Morley, & Herbert, 1992](#); [Rabin, 1999](#)).⁹

Selain itu, reflex aksis *hypothalamic-pituitary-adrenal* (HPA), aksis saraf simpatik-adrenal-medulla, dan aksis *hypothalamic-pituitary-ovarian* menyebabkan peningkatan sekresi hormon adrenal yaitu epinefrin, norepinefrin, dan kortisol. Peningkatan sekresi hormon juga terjadi pada hipofisis, yaitu hormon prolaktin dan hormone pertumbuhan. Di samping itu terdapat peningkatan peptide pada otak seperti melatonin, β -endorfin, dan enkephalin. Substansi-substansi yang meningkat sekresinya ini berperan mengikat respetor spesifik pada sel darah putih. Yang secara normal oleh tubuh digunakan sebagai bahan untuk meregulasi respon imun tubuh. ([Ader, Felten, & Cohen, 2001](#))⁹

Selain respon fisiologi di atas, stress menyebabkan perubahan kebiasaan seseorang, seperti misalnya penggunaan obat-obat anti-depresan, obat penenang, atau pengonsumsian alcohol dalam usaha menanggulangi stress. Kebiasaan semacam itu berpotensi penting dalam memengaruhi respon imun. ([Kiecolt-Glaser & Glaser, 1988](#)).⁹

Seseorang yang mengalami stress rentan terhadap infeksi akibat perubahan status imunitas, yang dikenal sebagai sindrom *sickness behavior*, dimana terdapat penurunan aktivitas disertai peningkatan respon terhadap nyeri, muncul anorexia, dan mood depresi. Perubahan sikap hidup ini mengakibatkan terjadinya konservasi energi yang secara normal diperlukan untuk melawan adanya infeksi.⁹

Perlu diketahui, durasi stress menentukan perubahan respon imun. Pada stress akut, terjadi redistribusi sel-sel imun ke bagian-bagian perifer tubuh, seperti kulit, sehingga sel-sel tersebut dapat secara cepat dan efisien melawan kehadiran agen asing. Sebaliknya, pada stress kronik terjadi keadaan immunosupresif dimana keberadaan sel T menurun pada bagian perifer disertai menurunnya respon imun kulit pada saat dilakukan *skin test* ([Dhabhar & McEwen, 1997](#)). Pada model manusia, keadaan immunosupresif ini menunjukkan adanya penurunan sitotoksitas dari sel NK, penurunan respon proliferasi limfosit, dan menumpulnya respon imunitas humoral terhadap imunisasi. Namun meskipun terdapat penurunan imunitas terhadap infeksi dan neoplasma, pada stress terdapat peningkatan aktivitas imun terhadap alergi dan autoimun. Hal ini disebabkan karena adanya pergeseran sitokin Th1-Th2; Th1 berperan untuk mengaktivasi imunitas selular saat terjadi infeksi dan neoplasma; Th2 berperan mengaktivasi imunitas humoral, respon alergi, dan autoimun. Pergeseran Th1-Th2 merupakan upaya tubuh untuk menjaga keseimbangan sistem imun, terutama sitokin (Th1) yang mulai menurun saat terpajan stress ([Marshall et al., 1998](#)).⁹

Pada manusia yang sehat, perubahan sistem imun ini tidak bermanifestasi klinis meskipun orang tersebut terpajan keadaan stress yang bervariasi. Kondisi ini terjadi karena adanya fleksibilitas sistem imun sehingga meskipun terjadi perubahan pada sistem tubuh sebagai respon terhadap stress tidak terjadi perubahan yang bermakna klinis terhadap sistem imun seseorang. Namun fleksibilitas sistem imun ini menurun seiring dengan pertambahan usia atau keadaan penyakit yang menyertai. Sehingga pada individu-individu ini terdapat peningkatan kerentanan terhadap infeksi dan penyakit saat terpajan stress.⁹

2.1.2.2 Malnutrisi

Makanan merupakan faktor penting dalam menyokong kehidupan. Menurut jumlah yang perlu dikonsumsi, makanan terbagi atas makronutrisi dan mikronutrisi. Yang dimaksud dengan makronutrisi

adalah makanan yang dikonsumsi dalam jumlah yang relatif besar, seperti karbohidrat, protein, dan lemak. Sedangkan yang dimaksud dengan mikronutrisi adalah makanan yang diperlukan dalam jumlah relatif kecil, seperti vitamin dan mineral. Keadaan malnutrisi seperti kekurangan atau kelebihan gizi dapat mempengaruhi imunitas seseorang.

Nutrisi, baik makronutrisi maupun mikronutrisi, dibutuhkan untuk memelihara fungsi sistem imun. Makronutrisi berperan dalam menjaga fungsi sel-sel efektor, seperti fungsi fagositosis, *cell-mediated immunity*, sistem komplemen, dan produksi immunoglobulin dan sitokin. Sedangkan mikronutrisi berperan sebagai mediator atau katalisator yang membantu metabolisme sehingga mempengaruhi respon imun. Makronutrisi maupun mikronutrisi diperlukan dalam jumlah yang berkecukupan dan seimbang.²¹ Keadaan malnutrisi seperti *undernutrition*, seperti konsumsi diet kurang dari 1200 kkal per hari; *overnutrition*; dan obesitas dapat menyebabkan penurunan sistem imun.^{11,12}

Jenis malnutrisi lain yang dapat menyebabkan penurunan respon imun adalah malnutrisi protein dan energi atau *Protein-energy malnutrition* (PEM). Pada penurunan sistem imun akibat PEM terjadi atrofi jaringan limfoid yang terlihat melalui penurunan ukuran dan masa dari timus. Secara histologi nampak penurunan kemampuan diferensiasi dari kortikomedula, sehingga jumlah sel limfoid menurun diikuti degenerasi badan Hassal. Akibatnya jumlah sel T yang matang dan berdiferensiasi menurun diikuti dengan penurunan respon *delayed-type hypersensitivity* dalam menghadapi antigen yang telah dikenali atau antigen baru. Adapun, respon serum antibodi tetap intak pada keadaan PEM, terutama apabila individu tersebut terpajan antigen yang cukup banyak sehingga tidak memerlukan aktivasi sel T terlebih dahulu. Namun pada antibodi mulai terdapat penurunan afinitas, sehingga setelah terpajan suatu antigen dapat dijumpai kompleks antigen-antibodi yang lebih tinggi dibanding individu yang tidak PEM.¹¹

Vitamin dan mineral berperan dalam berbagai jalur metabolisme dan fungsi imunitas. Kekurangan mikronutrisi dapat berdampak seperti

halnya kekurangan makronutrisi, sebab tanpa kehadiran mikronutrisi metabolisme berbagai makronutrisi tidak dapat terjadi. Mikronutrisi yang memengaruhi imunitas, antara lain:^{11,13,14}

- Seng (Zn)
- Selenium
- Zat besi
- Iodin
- Tembaga
- Vitamin A
- Vitamin C
- Vitamin E
- Vitamin B6
- Asam Folat
- CoQ10
- Glutathione
- Antioksidan

2.2 Imunitas

2.2.1 Pengertian dan Klasifikasi

Imunitas merupakan kemampuan sistem imun dalam melawan substansi asing yang masuk ke dalam tubuh.^{1,4,15} Respon imun seseorang terhadap patogen terbagi menjadi respon imun natural dan respon imun adaptif. Respon imun natural merupakan respon imun yang tidak memiliki spesifitas tertentu. Respon imun ini berperan melawan substansi asing yang sifatnya nonspesifik, termasuk mikroorganisme patogen, bahan kimia, serta berperan saat terjadi kerusakan jaringan akibat trauma atau terbakar.^{1,15} Sedangkan respon imun adaptif memiliki spesifitas dan *memory* untuk mengenali patogen tertentu yang masuk ke dalam tubuh sehingga bila tubuh terpapar patogen yang sama responnya akan meningkat.⁴

2.2.2 Imunitas Natural (Sistem Imun Nonspesifik)

Respon tubuh terhadap konfigurasi asing yang masuk ke dalam tubuh mula-mula bersifat stereotipik. Artinya saat terpapar dengan antigen-antigen yang berbeda akan berlangsung proses yang sama.⁴ Bentuk pertahanan alami, terdiri dari:^{1,16}

- pertahanan fisik yang mencegah masuknya kuman patogen dalam tubuh. Misalnya kulit, selaput lendir, silia saluran napas, batuk, dan bersin.
- pertahanan terlarut. Terdiri dari pertahanan biokimia yang disekresikan sebagai alat pertahanan tubuh, seperti lisozim dalam keringat, ludah, air mata, dan air susu, serta asam hidroklorida pada cairan lambung.

Bila suatu antigen berhasil melewati pertahanan fisik dan pertahanan terlarut kemudian masuk ke dalam tubuh akan terjadi respon imun alami. Efektor respon imun alami terbagi menjadi respon imun alami selular dan respon imun alami humoral:⁴

- Efektor respon imun alami selular ini adalah unsur-unsur fagosit seperti sel makrofag dan sel netrofil. Sel-sel makrofag akan memfagosit antigen asing tersebut kemudian antigen itu akan dicerna dengan bantuan enzim-enzim dalam lisosom.⁴
- Efektor respon imun alami humoral melibatkan sistem komplemen dan interferon.⁴ Sistem komplemen membantu destruksi bakteri atau parasit, baik dengan menghancurkan maupun mengikat membran sel mikroorganisme tersebut sehingga memudahkan makrofag untuk mengenali dan memakan bakteri atau parasit tersebut. Interferon berperan menginduksi sel-sel sekitar yang terserang virus dan mengaktifkan sel NK (*Natural Killer*).^{1,16}

2.2.3 Imunitas Adaptif (Sistem Imun Spesifik)

Apabila respon imun alami tidak berhasil melenyapkan antigen atau substansi asing maka proses respon imun dilanjutkan dengan respon imun adaptif. Sistem imun ini bersifat spesifik sebab sel-sel yang terlibat memiliki reseptor khusus. Reseptor ini bersifat spesifik terhadap antigen tertentu yang dikenali sebagai antigen asing. Ketika antigen asing tersebut masuk ke dalam tubuh, sel-sel dengan reseptor khusus ini dapat langsung mengenali dan mengupayakan untuk melenyapkan keberadaan antigen tersebut.¹⁷

Dalam sistem imun spesifik ini terdapat dua proses utama, yaitu proses aferen dan eferen. Proses aferen merupakan proses persiapan pembentukan efektor, sementara proses eferen merupakan proses pembentukan efektor. Pada proses aferen terlibat beberapa sel, diantaranya:¹⁷

- sel penyaji, dapat berupa makrofag (bertindak sebagai APC (*Antigen Presenting Cell*), limfosit B, atau sel-sel lain yang mampu menyajikan antigen/epitop.
- sel pengenal, yaitu sel yang mengenali antigen tertentu kemudian membentuk suatu *memory*, yaitu limfosit.
- sel pendukung, yaitu limfosit T_H.

Sedangkan pada proses eferen dikenal dua macam respon imun, yaitu respon imun selular dan respon imun humoral.^{1,4,16,17}

2.2.3.1 Respon Imun Selular

Dalam sistem imun selular yang berperan adalah sel limfosit T atau sel T. Fungsi utamanya antara lain membantu sel B memproduksi antibodi, mengenal dan menghancurkan sel yang terinfeksi virus, mengaktifkan makrofag dalam proses fagositosis, serta mengontrol ambang dan kualitas sistem imun. Sel T dibentuk dalam sumsum tulang, kemudian diproliferasi dan didiferensiasikan dalam kelenjar timus. Terdiri atas beberapa sel T:^{1,16}

- **sel T Naif (*virgin*)**: sel limfosit yang meninggalkan timus tanpa mengalami diferensiasi dan terdapat dalam limfoid perifer. Setelah terpajan antigen, sel ini akan berubah menjadi Th0 kemudian berkembang sebagai sel efektor Th1 dan Th2.
- **sel T CD4 (Th1 dan Th2)**: sel ini masuk ke sirkulasi dan menetap dalam organ limfoid seperti kelenjar getah bening untuk bertahun-tahun. Th1 berperan dalam reaksi hipersensitivitas lambat, sedangkan Th2 berperan dalam merangsang sel B untuk meningkatkan produksi antibodi.
- **sel T CD8 (CTL/Tc)**: sel ini ditemukan pada semua sel tubuh yang bernukleus. Fungsi utamanya adalah menyingkirkan sel yang

terinfeksi virus dengan cara menghancurkannya. Sel ini juga menghancurkan sel ganas dan sel histoinkompatibel yang menimbulkan penolakan pada transplantasi.

- **sel Ts/Tr:** sel Ts dikenal juga sebagai Th3 yang berperan dalam menekan aktivitas efektor sel T yang lain dan sel B. Ts ini diduga dapat mencegah respon Th1 dengan mengeluarkan sitokin immunosupresif untuk menghambat APC (berperan dalam mengubah sel T naif CD4 menjadi Th1) .

2.2.3.2 Respon Imun Humoral

Dalam sistem imun humoral yang berperan adalah sel limfosit B atau sel B yang berasal dari sel multipoten sumsum tulang. Sistem imun humoral ini bertujuan untuk merusak patogen (bakteri, virus, dan toksin) ekstraselular dan pencegahan penyebaran infeksi intraselular. Untuk mencapai tujuan tersebut, limfosit B yang mengenali antigen atau substansi asing akan berdiferensiasi menjadi sel plasma kemudian mensekresikan antibodi berupa immunoglobulin.^{1,4,16}

Immunoglobulin merupakan glikoprotein yang berfungsi sebagai reseptor terhadap antigen spesifik. Setiap individu dapat mensekresikan 10 hingga 100 juta macam immunoglobulin. Dalam setiap immunoglobulin terdapat rantai panjang dan rantai pendek yang saling menyusun membentuk suatu struktur yang terdiri atas domain yang bervariasi (*variable-region*) serta domain yang konstan (*constant-region*). Domain yang konstan berperan dalam menjaga stabilitas molekul immunoglobulin. Sedangkan domain yang bervariasi berfungsi untuk memediasi fungsi efektor spesifik terhadap kelas antigen tertentu.

Terdapat beberapa jenis immunoglobulin yang disekresikan, antara lain:^{1,16}

- **IgG:** merupakan Ig terbanyak dan biasa terdapat di cairan saraf sentral dan urin. IgG dapat menembus plasenta dan dapat ditemukan pada janin yang berusia 6-9 bulan. IgG memiliki sifat seperti komplemen yang membantu makrofag dalam mengenali sel sasarannya.

- **IgA:** ditemukan sedikit dalam serum dan memiliki kadar lebih tinggi pada cairan sekresi saluran napas, saluran cerna, saluran kemih, air mata, keringat, ludah, dan kolostrum. IgA berfungsi untuk menetralkan toksin atau virus dan mencegah kontak antara toksin atau virus dengan alat sasarannya.
- **IgM:** merupakan Ig terbesar dan kebanyakan sel B mengandung IgM. IgM merupakan respon imun primer yang dibentuk terlebih dahulu. IgM tidak dapat menembus plasenta, namun janin dapat membentuknya pada usia 12 minggu jika mendapatkan rangsangan. IgM merupakan komponen utama penyusun antibodi alamiah seperti isoaglutinin, golongan darah AB, dan antibodi heterofil.
- **IgD:** terdapat dalam darah dengan kadar yang sangat rendah (1% dari total serum) dan mempunyai aktivasi antibodi terhadap antigen berbagai makanan dan komponen nukleus.
- **IgE:** ditemukan sangat sedikit dalam serum. IgE mudah diikat sel mast, basofil, eosinofil, makrofag, dan trombosit. Kadar IgE tinggi ditemukan pada infeksi cacing, skistosomiasis, penyakit hidatid, trikinosis, dan alergi. IgE diduga berperan sebagai imunitas parasit. Pada alergi dikenal sebagai antibodi reagen.

Antibodi tersebut berperan dalam imunitas melalui tiga jalur, yaitu:¹⁷

- **Netralisasi.** Molekul immunoglobulin akan mengikat molekul spesifik pada permukaan pathogen (baik berupa mikroorganisme ataupun berupa toksin) sehingga tidak dapat merusak jaringan tubuh.
- **Opcionisasi.** Limfosit B mensekresikan antibodi yang kemudian melekat pada permukaan sel-sel fagosit. Antibodi tersebut mampu membungkus pathogen dengan membentuk kompleks antara antibody dan permukaan pathogen sehingga memudahkan sel-sel fagosit untuk memfagositosis pathogen.
- **Aktivasi sistem komplemen.**

Kedua sistem imun spesifik di atas memiliki beberapa sifat dasar, antara lain:^{1,16}

- **specificity**: respon imun bersifat spesifik terhadap antigen tertentu. Antibodi atau limfosit dapat mengenal, secara spesifik, bagian protein kompleks atau molekul besar lainnya yang disebut sebagai determinan atau epitop.
- **diversity**: tubuh manusia mempunyai sistem imun yang berpotensi mengenal antigen di lingkungan hidupnya, terutama limfosit yang mempunyai spesifitas terhadap antigen di dalam tubuh seluruhnya yang disebut dengan *lymphocyte repertoire*. Hal inilah yang menyebabkan limfosit dapat mendiferensiasi menjadi 10^9 determinan.
- **memory**: respon imun terhadap antigen akan meningkat efektivitasnya apabila terpapar antigen yang sama untuk kedua kali dan seterusnya. Hal ini disebut memori imunologikal yang diperankan oleh sel memori.
- **self limitation**: respon imun yang normal akan menurun dan menghilang beberapa waktu setelah stimulasi dihentikan.
- **discrimination of self from nonself**: sel pertahanan tubuh dapat membedakan antigen asing dari komponen tubuh sendiri. Limfosit akan bereaksi terhadap stimulasi antigen asing tetapi tidak memberi respon pada molekul dan komponen sendiri (*immune tolerance*).

2.3 Imunostimulasi

Imunostimulasi adalah cara memperbaiki fungsi sistem imun dengan menggunakan bahan yang merangsang sistem tersebut. Bahan yang dapat menstimulasi respon imun disebut imunostimulator.¹⁵ Berbagai produk baik buatan maupun alami dapat berfungsi sebagai imunostimulator.

2.3.1 Polifenol

Polifenol merupakan fitokimia yang ditemukan pada berbagai jenis sayuran dan buah, seperti gandum, beri, legumen, teh, anggur, minyak zaitun, coklat, kopi, almond, kacang tanah, dan palawija. Secara alami polifenol berperan sebagai antibiotik dan antifungal bagi tanaman. Polifenol memiliki gugus hidroksil yang mampu berikatan dengan zat radikal bebas sehingga dikenal sebagai antioksidan. Sebagai antioksidan, polifenol memiliki berbagai efek proteksi terhadap sel-sel tubuh. Termasuk proteksi terhadap sistem imun, terutama pada populasi yang mengalami stress oksidatif jangka panjang, misalnya pada orang tua dan orang yang sedang sakit. Stress oksidatif adalah stress yang terjadi akibat peningkatan produksi oksidan disertai jumlah antioksidan yang tidak adekuat sehingga timbul reaksi oksidatif yang berdampak pada kerusakan biomolekul, seperti protein, DNA, dan lipid. Kerusakan yang timbul akibat stress oksidatif ini dapat menyebabkan penurunan sistem imunitas diikuti peningkatan kerentanan terhadap infeksi.^{18,19}

Selain sebagai antioksidan, polifenol juga memiliki efek antiinflamasi. Polifenol memodulasi jalur MAPK, Akt, dan NF- κ B sehingga produksi sitokin dan kemokin terhambat, serta menekan aktivitas COX dan iNOS sehingga menurunkan produksi ROS/RNS.¹⁹

Pada penelitian menggunakan hewan coba mencit BALB/3T3 dengan intervensi pengonsumsi sereal yang mengandung polifenol selama lima minggu, didapatkan peningkatan kemampuan kemotaksis yang signifikan pada limfosit dan makrofag, peningkatan respon limfoproliferatif ketika terpajan radikal bebas, serta peningkatan sekresi IL-2 (Alvarez P, Alvarado C, Mathieu F, Jimenez L, Fuente M)²⁰. Selain itu, pada penelitian lain, polifenol juga menghambat produksi oksigen reaktif (ROS) dengan mengaktivasi sel granulosit dan limfosit. Namun, di samping memiliki fungsi stimulan terhadap sistem imun, polifenol juga dapat menyebabkan keadaan immunosupresi (Vinardell MP, Mitjans M), yakni bila digunakan pada dosis yang lebih tinggi. Polifenol menghambat

proliferasi limfosit dan sel mononuklear perifer; serta menghambat sekresi Immunoglobulin oleh sel B dan produksi IL-2. Menurunnya fungsi limfosit terjadi akibat terhambatnya aktivitas protein kinase C (PKC). Polifenol, sebagai antioksidan, menghambat produksi ROS yang berperan sebagai *second messenger* dalam mengaktivasi limfosit.¹⁸

2.3.2 *Phyllanthus niruri*

Phyllanthus niruri adalah tumbuhan liar dengan tinggi mencapai 60 cm yang tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia, India, Brazil, hutan Amazon, dan Texas. *Phyllanthus* berarti daun dan bunga, sebab jika dilihat sepintas, daun, bunga dan buahnya tampak serupa. Spesies *phyllanthus* yang dikenal sebagai bahan obat tradisional antara lain *P. amarus*, *P. urinaris*, *P. acidus*, *P. fraternus*, *P. Reticulatus*, dan *P. pinnatus*.^{21,22}

Phyllanthus merupakan salah satu dari lima fitofarmaka di Indonesia. Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia NOMOR : HK.00.05.41.1384²¹

“Fitofarmaka adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan uji klinik, bahan baku dan produk jadinya telah di standarisasi.”

Phyllanthus niruri di Indonesia telah dipasarkan dalam bentuk sirup dan tablet dengan dosis: 25 mg ekstrak *Phyllanthus niruri* setiap satu sendok takar (5 ml) sirup atau 50 mg ekstrak *Phyllanthus niruri* setiap satu kapsul. *Phyllanthus niruri* sebagai bahan dasar produk tersebut dibudidayakan dengan teknologi modern mengikuti standar GAP (*Good Agriculture Practices*) serta diproses mengikuti standar c-GMP (*Current-Good Manufacturing Practices*) dan CPOB (Cara Pembuatan Obat yang Baik) sesuai standar industri farmasi. Produk tersebut juga telah memperoleh sertifikat FITOFARMAKA dari Badan POM RI tanggal 22 Maret 2005.^{23,24}

Akar dan daun *Phyllanthus niruri* kaya senyawa flavonoid, antara lain filantin, hipofilantin, qeurcetrin, isoquercetrin, astragalin, dan rutin. Di samping itu, dilaporkan pula terdapat beberapa glikosida flavonoid dan senyawa flavonon baru. Dari minyak bijinya, telah diidentifikasi beberapa

asam lemak yaitu, asam ricinoleat, asam linoleat, dan asam linolenat. Beberapa senyawa lignan baru juga telah diisolasi dari *Phyllanthus niruri* yaitu, *seco-4-hidroksilintetralin*, *seco-isoarisiresinol trimetil eter*, *hidroksinirantin*, *dibenzilbutirolakton*, *nirfilin*, *neolignan (filnirurin)*. Dari sekian banyak zat yang terkandung dalam *P. niruri*, belum diketahui mana yang memiliki efek antivirus. Hanya diketahui bahwa zat aktif *P. niruri* bekerja terutama di hepar. Belum ditemukan kepustakaan yang membahas farmakokinetik *P. niruri*.²¹

Phyllanthus niruri sebagai imunostimulator memberikan efek baik terhadap respon imun nonspesifik maupun spesifik. Penelitian eksperimental laboratorik pada mencit menunjukkan peningkatan fagositosis dan kemotaksis makrofag, peningkatan kemotaksis neutrofil, peningkatan sitotoksitas sel NK, dan peningkatan aktivitas hemolisis komplemen. Sedangkan terhadap respon imun spesifik *Phyllanthus niruri* meningkatkan proliferasi sel limfosit T, meningkatkan sekresi TNF α dan IL-4, serta menurunkan aktivitas sekresi IL-2 dan IL-10. Dari uji klinis ekstrak *P. niruri* pada manusia, dinyatakan bahwa ekstrak *phyllanthus* meningkatkan kadar IFN γ , kadar CD4, dan rasio CD4/CD8.²¹

2.4 Produk Pangan Darurat BPPT

Produk pangan BPPT mengandung, antara lain:

Protein	7,1%
Karbohidrat	66,6%
Lemak	15,8%
Abu	4,5%
Serat	3,12%
Polifenol	8,32 mg/gram
Energi	437 kalori/100gram

2.5 Protokol Uji Efektivitas

2.5.1 Metode

Uji efektivitas yang dilakukan berupa uji eksperimental terhadap hewan coba. Uji eksperimental ini dilakukan dengan membandingkan efek mengonsumsi satu jenis pengobatan dengan pengobatan lainnya. Hasil penelitian eksperimental yang valid memberikan informasi tentang efek yang dikehendaki serta efek samping yang tidak dikehendaki.²⁵

2.5.2 Deskripsi Prosedur Tes

2.5.2.1 Persiapan

Hewan dewasa yang sehat diadaptasikan dengan kondisi laboratorium selama lima hari sebelum randomisasi hewan untuk dimasukkan ke dalam grup perlakuan.^{26,27} Kemudian selama kurang lebih satu minggu keadaan hewan disesuaikan dengan kondisi lapar, yaitu dengan membatasi pangan yang dikonsumsi sebanyak separuh dari porsi normalnya.

2.5.2.2 Hewan Percobaan

Dari seluruh mamalia, hewan rodensia menjadi pilihan utama. Sebab, di luar perbedaan ukuran dan anatomi minor, fisiologi hewan rodensia hampir indentik dengan manusia sehingga dikatakan bahwa rodensia merupakan spesies hewan yang dapat menggantikan manusia. Mencit merupakan rodensia berukuran kecil yang sensitive terhadap pemberian suatu substansi. Dianjurkan untuk memakai mencit yang biasa digunakan di laboratorium (*laboratory strain*) dengan variasi berat badan tidak melebihi $\pm 20\%$ dari mean berat badan hewan coba.^{26,27}

Mencit Balb/c merupakan ruminasia albino berukuran kecil. Mencit BALB-C banyak digunakan dalam berbagai bidang penelitian, yaitu imunologi, kardiovaskular, produksi antibodi monoclonal, toksikologi, farmakologi, penuaan, teratology, dan penelitian umum lainnya. Mencit ini dihasilkan pertama kali oleh McDowell tahun 1923. Mencit untuk penelitian diproduksi melalui pemasangan kakak beradik

sehingga memiliki sifat gen yang homogen. Rata-rata menghasilkan 5-7 anak setiap melahirkan dan berhenti menyusui anaknya saat berusia 19 hari.^{28, 29}



Gambar 2.1 Mencit Strain BALB-C²⁸

Mencit yang digunakan untuk penelitian memiliki berat badan ± 20 gram. Tabel 2.1 menunjukkan parameter normal dari berat badan, hematologi dan biokimia mencit usia 7-9 minggu.²⁸

Tabel 2.1. Parameter Berat Badan, Hematologi, dan Biokimia Mencit Balb/C²⁸

BALS/c06aHsd

BARRIER 2 - NETHERLANDS - FEBR. 2009		MALE (N=10)		FEMALE (N=10)	
Parameter	Unit	Mean	SD	Mean	SD
Body weight (7 - 9 weeks)	g	22,99	3,87	16,08	1,37
Haematology					
Leukocytes	* 10 ⁹ /l	7,80	2,97	7,81	2,26
Erythrocytes	* 10 ¹² /l	8,50	0,97	8,94	0,80
Hemoglobin	mmol/l	8,98	1,05	9,48	0,81
Hematocrit	l/l	0,43	0,05	0,46	0,04
Thrombocytes	* 10 ⁹ /l	1.323,67	294,82	1022,10	160,51
Lymphocytes	%	62,30	16,24	74,50	9,91
Neutrophiles	%	35,40	16,14	23,90	9,10
Eosinophiles	%	0,20	0,42	0,80	1,32
Basophiles	%	0,10	0,32	0,00	0,00
Monocytes	%	2,00	1,83	0,8	1,23
Biochemistry					
AP	U/l	152,50	105,64	254,80	44,41
LDH	U/l	275,80	74,59	265,00	40,70
Urea Nitrogen	mmol/l	10,06	2,07	9,21	2,26
Creatinine	µmol/l	17*	7,80	n.m. ²	n.m. ²
Glucose	mmol/l	9,02	1,27	8,25	1,38
Bilirubin	µmol/l	10,05	2,84	13,09	3,33
Cholesterol	mmol/l	2,19	0,30	1,48	0,15
Triglycerides	mmol/l	0,94	0,92	0,43	0,11
Calcium	mmol/l	2,32	0,29	2,34	0,27
Phosphate inorg.	mmol/l	2,47	0,31	2,55	0,37
Potassium	mmol/l	6,89	0,66	7,61	0,81
ALT	U/l	36,20	6,23	52,70	18,77
AST	U/l	97,10	37,13	116,70	44,40
Sodium	mmol/l	161,75	2,22	n.m. ¹	n.m. ¹

n.m.¹ = not measurable due to dilution with 0,9 % sodium chloride

n.m.² = not measurable since sample was diluted due to the small total sample volume

nl = values < 27 µmol/l were set to 13,5 µmol/l for the calculation of the mean

Animals were bred and maintained at Harlan Laboratories BV on Harlan Taktad Global 20185

Data should be used as a guideline only, since it can be subject to different parameters

2.5.2.3 Jumlah dan Jenis Kelamin

Besar sampel hewan coba mencit diperoleh dengan menggunakan rumus Federer, sebagai berikut:

$$(t-1)(n-1) > 15$$

Dengan: t = jumlah perlakuan; n = jumlah mencit untuk setiap kelompok perlakuan.²⁵

Jenis kelamin sampel sebaiknya digunakan baik jantan maupun betina untuk setiap kelompok perlakuan. Namun mengingat keterbatasan biaya dan norma etik penelitian eksperimental hewan coba dapat digunakan salah satu jenis kelamin.

2.5.2.4 Kondisi Kandang

Suhu ruangan tempat merawat hewan percobaan harus 18-26°C dan kelembaban relatif sebesar 40-70%.³⁰⁻³² Jika menggunakan cahaya buatan, harus diset menjadi 12 jam terang dan 12 jam gelap. Untuk pemberian makan, digunakan diet laboratorium konvensional dengan penyediaan air minum tidak terbatas. Digunakan satu kandang untuk setiap ekor mencit agar setiap mencit mendapat porsi pakan yang sama.^{26,27} Untuk persyaratan lainnya dapat dilihat pada **Tabel 2.2**

Tabel 2.2 Kisaran Ukuran Kandang Untuk Hewan Coba³⁰

Hewan	Berat (gram)	Luas Area/Hewan (cm ²)	Tinggi Kandang (cm)
Mencit	< 10	38,71	12,70
	10-15	51,62	12,70
	15-25	77,42	12,70
	> 25	96,78	12,70

2.5.3 Prosedur

2.5.3.1 Pengukuran Dosis

1. Volume Dosis³³

Untuk menghitung volume dosis jika diketahui dosis dan konsentrasi:

$$\text{Volume Dosis (ml/kg berat badan)} = \frac{\text{dosis (mg/kg b.b)}}{\text{konsentrasi (mg/ml)}}$$

2. Dosis setiap Hewan Percobaan³³

Untuk menghitung volume dosis zat yang akan diberikan sebagai cairan (*liquids*) kepada hewan (*individual*):

$$\text{Dosis hewan coba (ml)} = \text{volume dosis (ml/kg b.b)} \times \text{berat badan (kg)}$$

Singkatan: ml = milimeter; mg = miligram; g = gram (1000mg); kg = kilogram (1000g); b.b = berat badan (kg)

2.5.3.2 Pemeriksaan Klinis

Pemeriksaan klinis harus dilakukan minimal 1 kali sehari. Observasi tambahan sebaiknya dilakukan setiap hari dengan tindakan

sesuai prosedur untuk meminimalisasi kehilangan jumlah hewan percobaan, contohnya adalah autopsi atau pembekuan hewan mati dan pengisolasian atau pengorbanan hewan sekarat. Berat badan setiap hewan harus diukur sebelum pemberian substansi tes, setiap minggu selama periode pemberian, dan ketika mati. Perubahan berat badan harus dikalkulasi dan dicatat. Pada akhir percobaan semua hewan yang bertahan hidup harus ditimbang kemudian dikorbankan.^{26,27,33}

2.5.3.3 Pemeriksaan Parameter Penelitian

Parameter penelitian menggunakan sampel darah. Pengambilan darah mencit dilakukan dengan cara dekapitasi.³⁴ Cara ini dipilih karena dengan cara dekapitasi, jumlah darah yang dibutuhkan dapat tercapai. Sebelum dekapitasi, mencit akan dianestesi.³⁵ Pada hewan yang berukuran kecil, seperti tikus dan mencit, teknik anestesi yang disarankan menggunakan tabung yang ditutup dan diberikan kapas yang sudah dibasahi agen anestesi yang mudah menguap, seperti eter. Eter merupakan obat anestesi yang mudah menguap (*volatile*). Eter sangat efektif sebagai agen anestesi total untuk hampir seluruh jenis hewan. Eter bekerja dengan menekan sistem saraf pusat tanpa menimbulkan efek samping terhadap sistem tubuh lainnya. Keuntungan penggunaan eter adalah sifat agen anestesi ini yang tergolong murah, aman, dan stabil sehingga dapat digunakan dengan peralatan yang terbatas. Kerugiannya, agen anestesi ini mudah terbakar dan meledak.³⁶

Darah yang diambil kemudian dilakukan beberapa pemeriksaan, meliputi:

1. Penghitungan jumlah dan jenis sel darah putih³⁷⁻⁴¹

Lekosit merupakan bagian sel darah yang berfungsi melindungi tubuh dari serangan agen-agen asing. Sel ini bekerja sama dengan protein-protein dalam tubuh, immunoglobulin, serta sistem komplemen dalam menjalankan respon imun.⁴² Produksi sel darah ini dapat bervariasi dan dipengaruhi kebutuhan tubuh. Produksi lekosit dapat melambat atau bahkan terhenti akibat terpajan zat toksik atau terpajan radiasi, sebaliknya

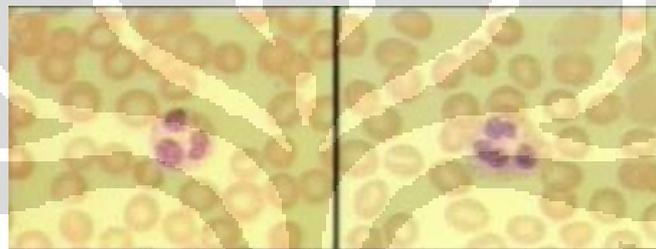
produksi akan bertambah ketika diperlukan untuk melawan agen-agen asing yang masuk ke dalam tubuh.⁴³

Hitung jenis lekosit merupakan teknik untuk mengetahui persentase tiap jenis lekosit dalam sediaan darah tepi. Adapun jenis-jenis lekosit yang dibedakan, antara lain:⁴⁴

a. neutrofil (segmen)

Sel neutrofil segmen merupakan jenis lekosit yang berperan sebagai pertahanan primer terhadap infeksi. Adanya respon tubuh terhadap infeksi atau luka dapat meningkatkan produksi lekosit neutrofil ini.

Gambar 2.2 Neutrofil Segmen⁴⁴



b. neutrofil (batang)

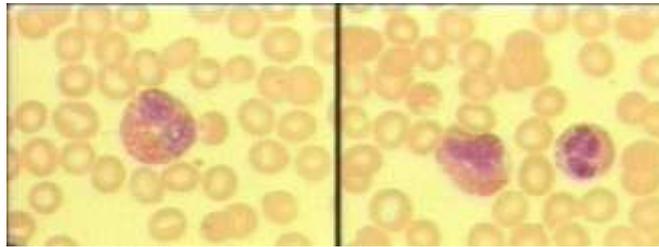
Sel neutrofil batang merupakan jenis neutrofil *immature* yang dapat terlihat. Keberadaan neutrofil batang menandakan fenomena “shift to the left” yang merupakan respon awal terhadap infeksi yang terjadi bahkan sebelum adanya tanda kenaikan jumlah sel darah putih.

Gambar 2.3 Neutrofil Batang⁴⁴



c. eosinofil

Sel jenis ini berperan dalam respon terhadap alergi atau infeksi parasit.

Gambar 2.4 Eosinofil ⁴⁴

Peningkatan jumlah eosinofil menandakan adanya:

- Reaksi terhadap alergi
- Infeksi parasit
- Infeksi kulit kronik
- Kanker

Penurunan jumlah lekosit jenis ini menandakan adanya:

- Stress
- Pajanan steroid
- Penghambat produksi lekosit

d. basofil

Sel basofil memiliki kemampuan untuk memfagosit bakteri dan benda asing lainnya. Selain itu basofil juga berperan dalam respon terhadap alergi.

Gambar 2.5 Basofil ⁴⁴

Peningkatan persentase basofil menandakan adanya:

- Kanker
- Reaksi alergi
- Infeksi
- Pajanan terhadap radiasi.

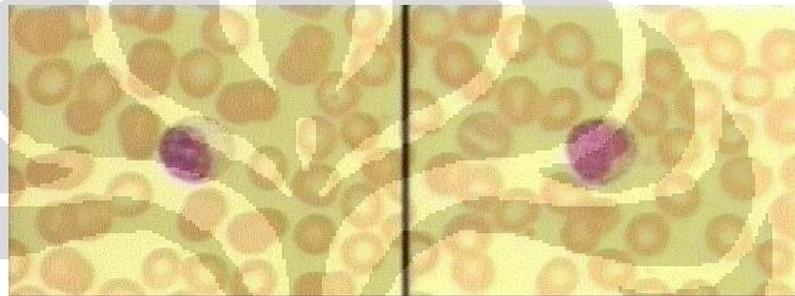
Sedangkan, penurunan persentase basofil menandakan adanya:

- Stress
- Alergi
- Hipotiroidisme
- Paparan steroid kronik

e. Limfosit

Sel limfosit berperan baik terhadap respon cepat maupun respon lambat adanya infeksi atau inflamasi.

Gambar 2.6 Limfosit⁴⁴



Peningkatan persentase limfosit menandakan:

- Infeksi virus
- Infeksi bakteri
- Kanker
- Graves' disease

Penurunan persentase limfosit menandakan:

- Paparan steroid
- Kanker
- Immunodefisiensi
- Gagal ginjal
- Lupus

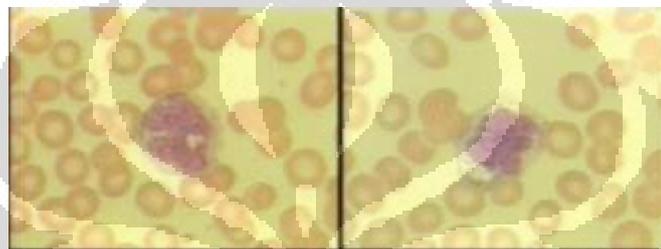
Dalam perkembangannya, limfosit berdiferensiasi untuk mengenali antigen-antigen yang terpajan terhadap sel tersebut. Bentuk pengenalan terhadap antigen-antigen dikenal sebagai 'memory' dapat ditemukan pada limfosit B dan limfosit T.

Memory ini memungkinkan sistem imun untuk mempertahankan tubuh dengan lebih cepat dan efisien sehingga dapat mencegah serangan-serangan agen-agen patologis.

f. Monocytes

Sel monosit berperan dalam respon terhadap inflamasi, infeksi, dan keberadaan benda asing. Sel monosit ini memiliki kemampuan untuk memfagosit substansi-substansi asing.

Gambar 2.7 Monosit ⁴⁴



Peningkatan persentase monosit menandakan:

- Perbaikan dari infeksi akut
- Infeksi virus
- Infeksi parasit
- Kelainan jaringan ikat (kolagen)
- Beberapa kanker

Penurunan persentase monosit menandakan:

- Infeksi HIV
- Rheumatoid arthritis
- Pajanan steroid
- Beberapa kanker.

Di antara keenam jenis lekosit di atas, sebagian besar jenis lekosit adalah netrofil segmen dan limfosit.

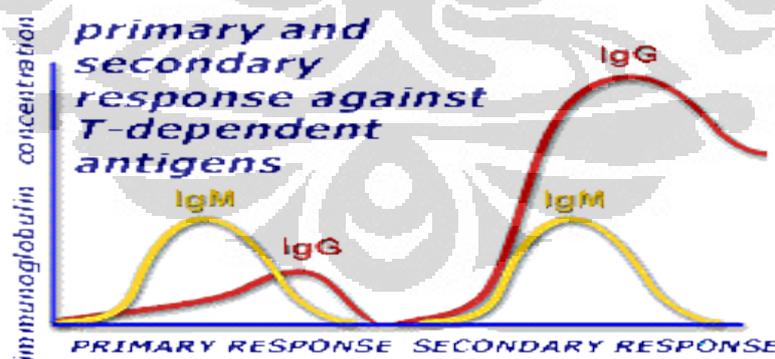
2. Penghitungan IgG total dengan menggunakan ELISA ⁴¹

Imunoglobulin merupakan produk yang dihasilkan oleh imunitas humoral ketika terpajan suatu antigen. Imunoglobulin ini terdiri dari berbagai macam isotope. Imunoglobulin yang dominan saat pertama kali

terpajan antigen adalah immunoglobulin M yang berperan sebagai efektor saat terjadi respon primer. Dalam serum, konsentrasi IgM mencapai 10-12% dari total immunoglobulin. Namun, bila tubuh kembali terpajan suatu antigen yang sama, imunitas humoral akan kembali memproduksi immunoglobulin, terutama immunoglobulin G. IgG merupakan immunoglobulin yang berperan pada respon sekunder. Dalam serum, konsentrasi IgG mencapai 80-85%.⁴⁵

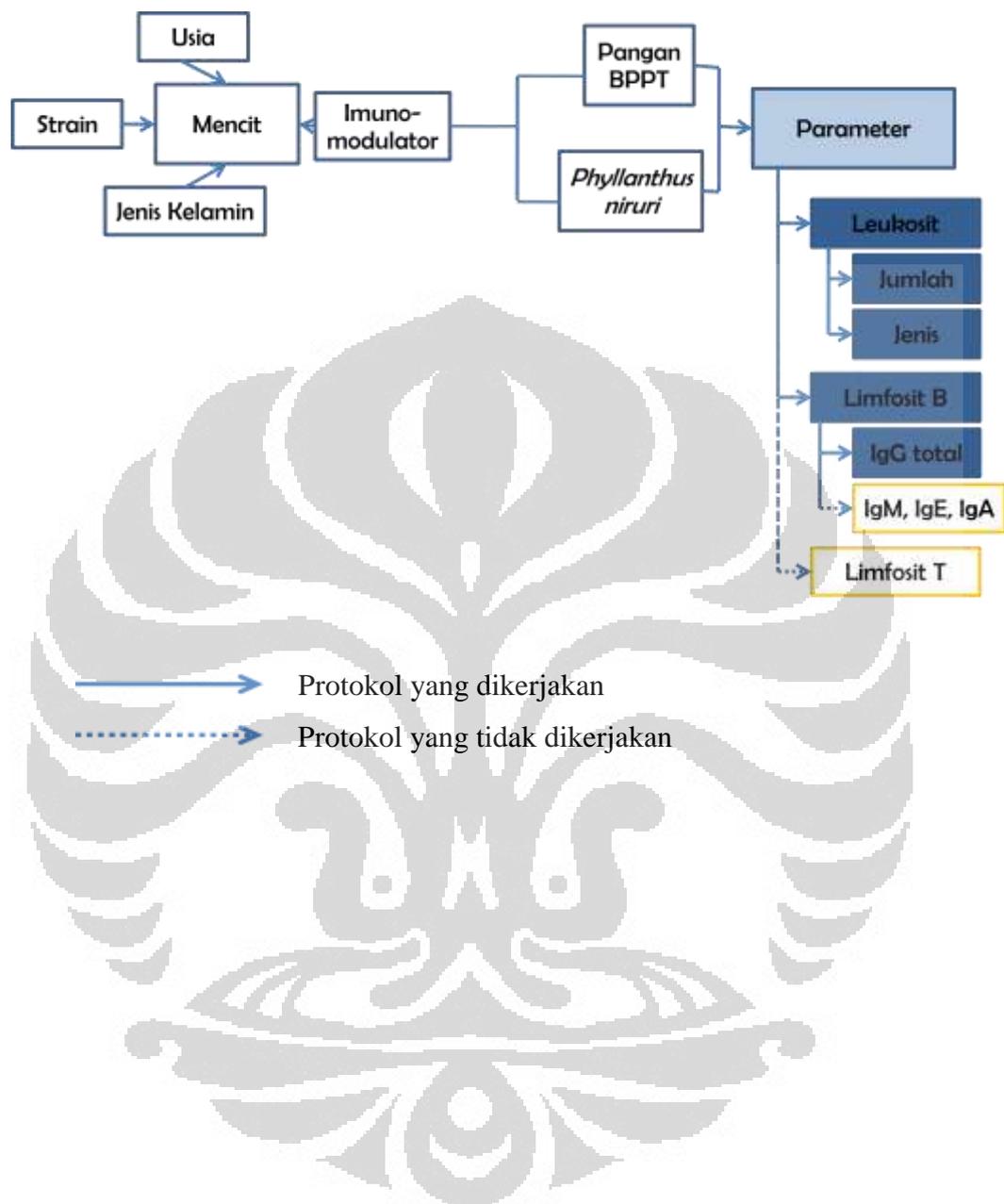
Kadar IgG terlihat lebih tinggi pada respon primer akhir maupun pada respon sekunder, serta tetap tinggi meskipun tidak sedang terpajan oleh antigen yang sama.⁴⁶ Hal ini disebabkan karena IgG memiliki waktu paruh mencapai 21 hari sementara IgM memiliki waktu paruh 5 hari. Selain itu, produksi IgG pada saat respon sekunder lebih tinggi dibandingkan produksi IgM.⁴⁷ Adapun peningkatan konsentrasi IgG dapat dilihat pada **Gambar 2.8**

Gambar 2.8 Respon Primer dan Sekunder Imunitas Humoral⁴⁵



www.sanidadanimal.info

2.6 Kerangka Konsep



BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah penelitian eksperimental pada hewan coba mencit (*mouse*), yaitu dengan *true experimental design*. Pada desain penelitian ini, dilakukan observasi jangka waktu 6 minggu dan kemudian pada akhir periode penelitian, semua mencit dikorbankan untuk mengambil sampel darah. Sampel darah digunakan untuk pemeriksaan jumlah leukosit, jenis leukosit, dan jumlah IgG total.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai dari bulan Februari tahun 2010 hingga bulan Agustus tahun 2011. Adapun kegiatan penelitian meliputi:

- Pemeliharaan mencit dan pengambilan sample dilaksanakan di *Animal House*,
- Penghitungan jenis leukosit di Ruang Praktikum Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dan di Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia,
- Penghitungan jumlah IgG total di Laboratorium Eijkmann,
- Pemeriksaan darah lengkap di Laboratorium Ragunan,
- Pengolahan data dilaksanakan di Departemen Farmakologi.

3.3 Sampel Penelitian

3.3.1 Jenis dan Besar Sampel

Sampel penelitian adalah mencit strain BALB-C betina, yang berusia ± 20 minggu (usia dewasa). Strain tikus ini selain memiliki usia yang relatif sama, juga memiliki berat badan yang relatif sama pula, sekitar 18 gram. Pengambilan sampel dilakukan secara random alokasi untuk setiap perlakuan. Besar sampel hewan coba mencit diperoleh dengan menggunakan rumus Federer, sebagai berikut:

$$(t-1)(n-1) > 15$$

$$(4-1)(n-1) > 15$$

$$3(n-1) > 15$$

$$n-1 > 5$$

$$n \geq 6$$

Keterangan :

t = jumlah perlakuan = 4 perlakuan (perlakuan produk pangan BPPT, perlakuan kontrol dengan pangan biasa, perlakuan pembanding dengan menggunakan *Phyllanthus niruri*, dan perlakuan produk pangan BPPT yang tidak mengandung zat aktif).

n = jumlah mencit untuk setiap kelompok perlakuan.

3.3.2 Pemilihan Sampel

Sampel penelitian dibagi secara random ke dalam dua kelompok perlakuan, yaitu Kelompok Lapar yang diberi Pakan Uji (KLPU) dan Kelompok Lapar yang diberi Pakan Pembanding (KLPP).

3.3.3 Pengelolaan Kandang Hewan

Suhu ruangan tempat merawat hewan percobaan 18-26°C. Setiap kandang ditinggali oleh 1 ekor hewan coba agar tidak mengganggu observasi. Cahaya yang digunakan adalah cahaya *artificial* dan diset ± 12 jam terang dan ± 12 jam gelap. Untuk pemberian makan, digunakan diet laboratorium konvensional dengan penyediaan air minum tidak terbatas.

3.4 Cara Kerja

Mencit *strain* BALB-C yang telah diaklimatisasi akan dibuat menderita lapar. Mencit kemudian akan mendapat perlakuan sesuai dengan kelompok perlakuan selama empat minggu. Kemudian pada akhir periode uji masing-masing kelompok, enam ekor mencit akan dikorbankan. Hasil dibandingkan antara kelompok mencit yang diberi

produk pangan BPPT dan kelompok mencit yang diberi pakan biasa ditambah imunostimulasi *Phyllanthus niruri* sebagai kontrol positif.

Secara teknis, penelitian yang dirangkai sebagai berikut:

1. Pada satu minggu pertama, semua kelompok mencit diaklimatisasi. Kemudian selama 2 minggu, mencit dibuat lapar dengan diberi pakan biasa sebanyak 50% dari jumlah pakan dalam sehari, yaitu produk pangan BR2 dengan dosis 3 gram/ekor/hari dalam dua kali pemberian yaitu pada pukul 09.00 dan pukul 15.00.
2. Pada akhir minggu pertama atau yang dihitung sebagai minggu ke -0 penelitian, 6 ekor mencit, secara random, dikorbankan dan diambil darahnya untuk dilakukan pemeriksaan.
3. Dua puluh empat ekor mencit yang tersisa dibagi ke dalam dua kelompok, yaitu KLPU dan KLPP secara random. Mencit yang termasuk dalam kelompok KLPU diberikan produk pangan BPPT dengan sonde sebanyak 1 gram pada pukul 09.00 WIB dan pakan BR2 sebanyak 3 gram pada pukul 11.00 WIB dan pukul 15.00 WIB. Sedangkan mencit yang termasuk dalam kelompok KLPP diberikan imunomodulator *Phyllanthus niruri* dengan menggunakan sonde pada pukul 09.00 WIB dan diberikan pakan BR2 sebanyak 3 gram pada pukul 11.00 WIB dan pukul 15.00 WIB.
4. Pada akhir minggu kedua penelitian, enam ekor mencit dari masing – masing kelompok perlakuan dikorbankan untuk diambil darahnya.
5. Demikian pula pada akhir minggu keempat, enam ekor mencit dari masing – masing kelompok perlakuan dikorbankan untuk diambil darahnya.

3.5 Identifikasi Variabel

3.5.1 Variabel bebas: perlakuan menurut jenis produk pangan yang diberikan.

3.5.2 Variabel terikat: jumlah leukosit, jenis leukosit, yaitu netrofil segmen dan limfosit, serta jumlah IgG total.

3.6 Cara Pengambilan Data

Pengambilan darah dilakukan dengan teknik dekapitasi agar jumlah sampel darah yang diperlukan tercukupi. Sampel darah kemudian diolah untuk mendapatkan hasil hitung jumlah lekosit, hasil hitung jenis lekosit, dan hasil hitung jumlah IgG total. Adapun hasil sampingan berupa hasil hitung eritrosit dan kadar hemoglobin juga dijadikan sebagai data tambahan.

3.6.1 Menghitung *Differential Leucocyte*

Membuat dan mewarnai sediaan hapus darah tepi

Bahan : darah segar yang berasal dari vena yang dihapuskan pada kaca objek.

Alat :

- Kaca objek ukuran 25 x 75 mm
- Batang gelas
- Rak kaca objek
- Pipet Pasteur

Reagen : zat warna Wright 1 g dan metanol absolute 600 ml

Cara membuat sediaan hapus:

1. Pilihlah kaca objek yang bertepi rata sebagai “kaca penghapus”.
2. Letakkan satu tetes kecil darah, pada $\pm 2-3$ mm dari ujung kaca objek. Letakkan kaca penghapus dengan sudut $30-45^\circ$ terhadap kaca objek di depan tetes darah.
3. Tarik kaca penghapus ke belakang sehingga menyentuh tetes darah, tunggu sampai darah menyebar pada sudut tersebut.
4. Dengan gerak yang mentab doronglah kaca penghapus sehingga terbentuk hapusan darah sepanjang 3-4 cm pada kaca objek. Darah harus habis sebelum kaca penghapus mencapai ujung lain kaca objek.
5. Biarkan hapusan darah mengering di udara dan segera difiksasi dengan methanol absolute selama 2-3 menit. Tuliskan identitas tikus pada bagian tebal hapusan dengan pensil.

Cara mewarnai sediaan hapus menggunakan pewarnaan Wright:

1. Letakkan sediaan hapus yang telah difiksasi pada dua batang gelas di atas bak tempat pewarnaan.
2. Genangi sediaan hapus dengan zat warna Wright. Biarkan selama 3-5 menit.
3. Tambahkan larutan dapar dalam jumlah yang sama dengan zat warna. Tiup agar larutan dapar tercampur rata dengan zat warna. Biarkan selama 5-10 menit.
4. Bilas dengan air ledeng, mula-mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat. Kemudian biarkan sediaan mengering.

Cara memeriksa:

Letakkan satu tetes minyak imersi pada bagian sediaan hapus yang baik untuk diperiksa dan tutup dengan kaca tutup. Lihat dengan pembesaran lemah (10x10) untuk mendapatkan gambaran menyeluruh. Selanjutnya lihat dengan lensa objektif 40x.

3.6.2 Pemeriksaan Jumlah IgG Total

Metode yang digunakan adalah metode ELISA

Gambaran Umum

Peralatan atau kit ELISA IgG tikus dirancang untuk menghitung IgG pada serum atau plasma tikus. Tes ini menggunakan anti IgG tikus (*goat antimouse IgG antibodies*) untuk imobilisasi fase solid (bagian yang solid atau *microtiter wells*) dan *horseradish* peroksidase (HRP) yang dikonjugasikan dengan anti antibodi IgG tikus (*goat antimouse IgG antibodies*) untuk deteksi. Menentukan spesivitas IgG dilakukan dengan deteksi antibodi yang diabsorpsi silang pada kolom agarosa IgM dan IgA tikus, Reaktivitas silang dengan immunoglobulin dari spesies lain tidak diinvestigasi.

Prinsip Tes

Sampel dilarutkan dan diinkubasikan pada *microtiter wells* selama 45 menit di dekat IgG standar tikus yang disiapkan. Kemudian *microtiter wells* dicuci dan konjugasi HRP ditambahkan dan diinkubasikan selama 45 menit. Molekul IgG seperti *sandwich* yang terletak di antara imobilisasi dan deteksi antibodi. *Microtiter wells* kemudian dicuci untuk menghilangkan HRP-berlabel antibodi yang tidak terikat dan reagen TMB ditambahkan dan diinkubasikan selama 20 menit pada temperatur ruangan. Hal ini akan mengakibatkan munculnya warna biru. Warna tidak akan bertambah biru jika ditambahkan Stop Solution, mengubah warna biru menjadi kuning dan densitas optik diukur dengan spektrofotometri pada 450 nm. Konsentrasi IgG proporsional dengan densitas optik dari sampel dan diperoleh dari kurva standar.

Alat Dan Bahan

Alat yang tersedia dengan kit:

1. anti IgG tikus yang menutupi 96 well plate (12 strips pada 8 well)
2. reagen konjugasi HRP, 11 ml
3. standar referensi (*lyophilized*)
4. 20 x larutan pencuci (wash solution), 50 ml
5. 10 x *diluent* (50 ml)
6. reagen TMB (satu langkah) 11 ml
7. *stop solution* (1N HCl), 11 ml

Alat yang dibutuhkan tapi tidak tersedia pada kit:

1. pipet yang akurat dan tip
2. air yang telah didistilasi dan air deionisasi
3. *polypropylene* atau gelas tabung
4. *vortex mixer*
5. kertas serap
6. *micro-plate incubator/shaker mixing* dengan kecepatan kurang lebih 150 rpm

7. *plate washer*
8. *plate reader* dengan rentang densitas optik 0-4 pada 450 nm
9. *graph paper* (PC *graphing software*)

Penyimpanan Kit Tes

Peralatan tes akan bertahan selama 6 bulan. *Microtiter plate* sebaiknya disimpan dalam tas tertutup.

Instruksi Umum

1. Baca dan pahami instruksi secara menyeluruh sebelum menggunakan kit.
2. Semua reagen harus mencapai suhu ruangan (18-25°C) sebelum digunakan.
3. Hasil yang optimum akan tercapai jika, pada setiap langkah, reagen dimasukkan ke *wells* dengan pipet dalam 5 menit.

Persiapan untuk *Diluent*

Diluent tersedia dalam 10 stok. Sebelum menggunakan, perkirakan volum akhir dari diluen yang dibutuhkan untuk tes dan larutkan satu volume dari 10 stok dengan 9 volum yang berupa air terdistilasi dan deionisasi.

Persiapan *Wash Solution* (Larutan Pencuci)

Wash solution atau larutan pencuci tersedia dalam 20 stok. Sebelum menggunakannya, larutkan isi dari botol (50 ml) dengan 950 ml air terdistilasi atau deionisasi

Persiapan Standar

1. Standar IgG tikus tersedia dalam bentuk stok *lyophilized*. Mengembalikan ke dalam bentuk original (rekonstitusi) dengan 1,0 ml air terdistilasi atau deionisasi (rekonstitusi standar stabil pada suhu 40°C selama seminggu tetapi sebaiknya disimpan dalam lemari

pendingin pada suhu -200°C setelah rekonstitusi jika akan digunakan kembali)

2. Beri label 8 *polypropylene* atau gelas tabung dengan 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81; dan 0 ng/ml
3. Ambil dengan menggunakan pipet volume diluen yang detailnya terdapat pada IgG standar dengan label pada tabung yang diberi label 500 ng/ml. Lalu tambahkan volume IgG standar yang diindikasikan dan campurkan. Ini merupakan standar 500ng/ml
4. Tambahkan 250 μl diluen ke dalam tabung yang telah diberi label 250; 125; 62,5;31,25;15,63;7,81; dan 0 ng/ml
5. Siapkan standar untuk 250 ng/ml dengan melarutkan dan mencampurkan 250 μl dari standar 500 μl dengan 250 μl diluen di dalam tabung berlabel 250 ng/ml
6. Dengan cara yang sama siapkan standar untuk 125;62,5;31,25;15,63;7,81 ng/ml

Persiapan Sampel

Catatan umum: IgG ada di plasma atau serum tikus dengan konsentrasi kurang lebih 15 mg/ml. Untuk mendapatkan nilai yang ada dalam rentang pada kurva standar, disarankan sampel awalnya dilarutkan 200.000 kali dengan menggunakan prosedur di bawah ini untuk setiap sampel yang dites:

1. tambahkan 998 μl dan 798 μl dari 1x diluen ke dalam tabung yang terpisah.
2. ambil dengan pipet dan campur 2 μl serum/ plasma ke dalam tabung yang berisi 998 μl diluen. Ini merupakan 500 kali sampel yang dilarutkan.
3. campurkan 2 μl dari 500 kali sampel yang dilarutkan dengan 798 μl diluen pada tabung kedua. Ini merupakan 200.000 kali pelarutan dari sampel.
4. ulang prosuder ini untuk setiap sampel yang dites.

5. ekstrak jaringan dan cairan tubuh dibandingkan dengan serum atau plasma mungkin memiliki kadar IgG yang lebih rendah.

Prosedur Tes

1. Amankan jumlah *wells* yang diinginkan pada rak atau tempat lain yang memungkinkan.
2. Tambahkan 100 μ l standard sampel yang telah dilarutkan ke dalam *wells*.
3. Inkubasi pada *orbital micro-plate shaker* pada 100-150 rpm pada suhu ruangan (18-25°C) selama 45 menit.
4. Aspirasi isi dari microtiter dan cuci *wells* 5 kali dengan 1 kali larutan pencuci (*wash solution*) dengan menggunakan *plate washer* (400 μ l/*well*). Prosedur mencuci sebaiknya dilakukan dengan cepat.
5. Benturkan dengan tajam *wells* ke kertas penyerap untuk menghilangkan semua residu *buffer* pancuci.
6. Tambahkan 100 μ l reagen konjugasi enzim pada setiap *well*.
7. Inkubasi pada *orbital micro-plate shaker* pada 100-150 rpm pada suhu ruangan.
8. Cuci dengan prosedur nomor 4 dan 5.
9. Tambahkan 100 μ l reagen TMB pada setiap *well*.
10. Campur pada *orbital micro-plate shaker* pada 100-150 rpm pada suhu ruangan.
11. Hentikan reaksi dengan menambahkan 100 μ l Stop Solution pada setiap *well*.
12. Campurkan (langkah ini penting untuk memastikan warna biru menjadi kuning).
13. Baca densitas optik pada 450 nm dengan pembaca *microtiter plate* dalam 5 menit.

Kalkulasi Hasil

1. Kalkulasi rata-rata nilai absorpsi (\AA 450) untuk setiap set pada standar referensi dan sampel.

2. Buat kurva standar dengan memplot rata-rata nilai absorpsi yang diperoleh dari masing-masing standar referensi dengan konsentrasi standar referensi dalam ng/ml pada kertas grafis linear, dengan nilai absorpsi pada sumbu vertikal dan konsentrasi pada sumbu horizontal.
3. Gunakan rata-rata nilai absorpsi untuk setiap sampel, tentukan konsentrasi IgG dalam ng/ml dari kurva standar.
4. Kalikan konsentrasi yang diperoleh dengan faktor dilusi untuk menentukan konsentrasi aktual pada sampel IgG.
5. Langkah 4 membutuhkan *PC graphing software*.
6. Jika nilai OD450 di luar rentang pada kurva standar, sampel sebaiknya dilarutkan dengan tepat dan dites ulang.

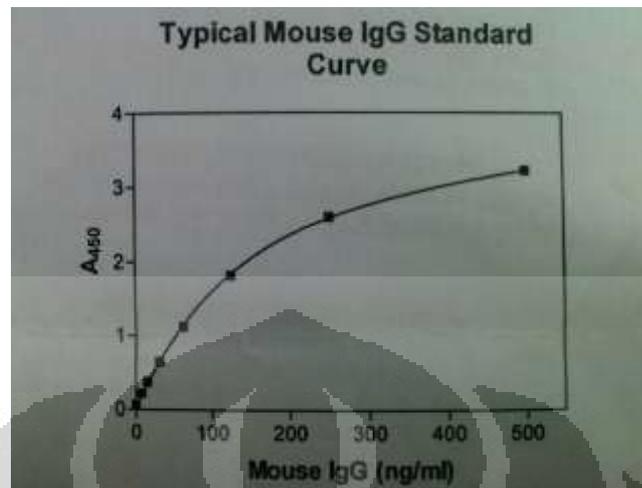
Kurva Standar

Kurva standar dengan densitas optik pada 450 nm pada sumbu Y dan konsentrasi IgG pada sumbu X ditunjukkan pada grafik di bawah. Kurva ini bertujuan hanya sebagai ilustrasi dan sebaiknya tidak digunakan untuk mengkalkulasi. Masing-masing pengguna harus memperoleh data masing-masing kurva standar untuk setiap eksperimen.

Tabel 3.1 Hubungan konsentrasi IgG dengan densitas optik pada 450 nm^{44,45}

IgG (ng/ml)	Absorpsi (450 nm)
500	3,215
250	1,298
125	1,820
62,5	1,126
31,25	0,652
15,63	0,372
7,81	0,221
0	0,067

Gambar 3.1 Kurva standar hubungan konsentrasi IgG dengan densitas optik pada 450 nm^{44.45}



3.7 Rencana Manajemen dan Analisis Data

- 3.7.1 Data kasar didapat dari hasil penelitian dan penghitungan sebagaimana telah dijabarkan di atas.
- 3.7.2 Data kasar kemudian diolah menjadi data bersih yang diadaptasi sesuai dengan kebutuhan penelitian.
- 3.7.3 Data diolah menggunakan SPSS for Windows versi 11.5
- 3.7.4 Analisis univariat digunakan untuk melihat penyajian distribusi frekuensi dari analisis distribusi variabel dependen dan variabel independen.
- 3.7.5 Uji hipotesis *t-test* dilakukan pada data dengan distribusi normal ($p > 0,05$) menggunakan SPSS for Windows versi 11.5
- 3.7.6 Data yang tidak terdistribusi normal dikonversi terlebih dahulu.
- 3.7.7 Apabila data yang telah dikonversi telah terdistribusi normal dilakukan uji hipotesis *t-test* menggunakan SPSS for Windows versi 11.5.
- 3.7.8 Apabila data tetap tidak terdistribusi normal, pada data sekunder yang belum dikonversi dilakukan uji hipotesis *non-parametric* Mann-Whitney menggunakan SPSS for Windows versi 11.5.

3.8 Definisi Operasional

Dalam penelitian, peneliti menggunakan istilah-istilah yang dapat didefinisikan sebagai berikut:

1. **Respon imunitas** adalah respon sistem pertahanan tubuh dalam mengeliminasi benda asing yang masuk ke dalam tubuh.
2. **Produk pangan BPPT** adalah pangan bubuk padat gizi yang mengandung polifenol, zat aktif yang memberikan efek sebagai imunostimulan.
3. **Pakan pembanding** adalah pakan BR2 yang diberikan bersama imunostimulan *Phyllanthus niruri*.
4. **Keadaan umum** adalah data penunjang yang didapatkan sebagai pemeriksaan klinis selama penelitian, yaitu berat badan.
5. **Parameter respon imun** adalah data utama mengenai respon imunitas hewan coba yang didapatkan dalam penelitian, yaitu respon imunitas umum seperti jumlah dan jenis leukosit, serta respon imunitas spesifik seperti jumlah IgG total.
6. **Kondisi lapar** adalah kondisi yang diciptakan dengan membatasi pemberian pakan separuh dari porsi pakan yang dikonsumsi hewan coba dalam keadaan tidak lapar.

3.9 Masalah Etika

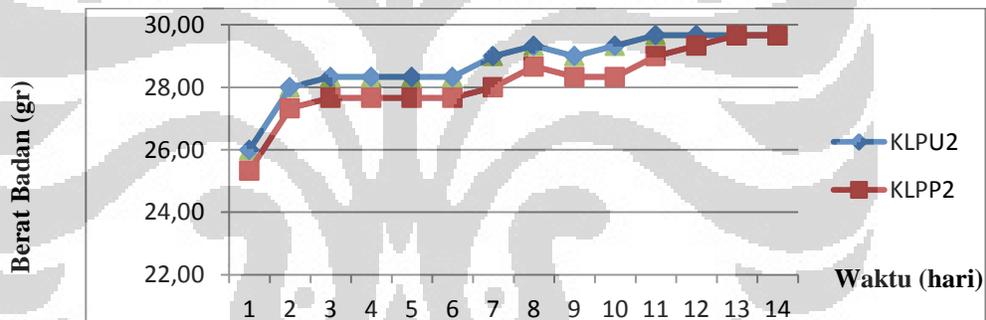
Dalam penelitian ini, peneliti menggunakan jumlah hewan coba yang sesuai dengan perhitungan sebenarnya sehingga tidak menggunakan hewan coba secara berlebihan. Pengkajian Etika dilakukan oleh Pembimbing Penelitian, Surat lembar Pengkajian Etika terlampir pada laporan ini.

BAB IV HASIL PENELITIAN

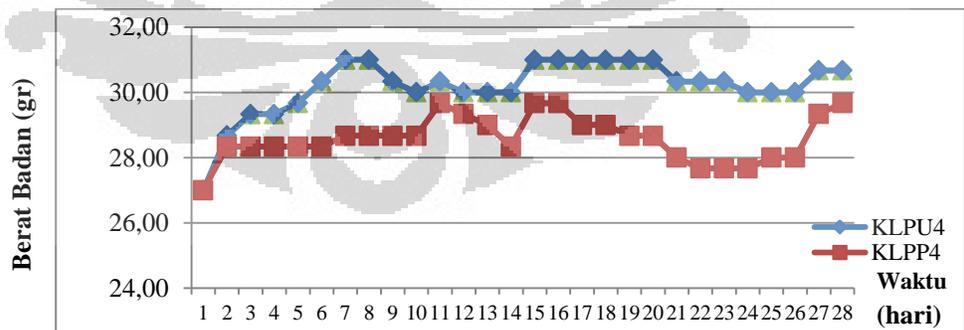
4.1 Keadaan Umum

Kondisi kelaparan yang dialami hewan coba pada penelitian ini dapat menyebabkan terganggunya pertumbuhan hewan coba. Untuk itu, melalui pemeriksaan klinis yang dilakukan setiap hari pada penelitian ini juga dilakukan pemeriksaan berat badan. Berikut gambaran rerata berat badan hewan coba dalam perlakuan 2 minggu dan 4 minggu.

Grafik 4.1 Berat Badan Mencit pada Kelompok Uji dan Kelompok Pembanding dalam 2 Minggu Perlakuan



Grafik 4.2 Berat Badan Mencit pada Kelompok Uji dan Kelompok Pembanding dalam 4 Minggu Perlakuan



KLPU= Kelompok Lapar Pangan Uji; KLPP= Kelompok Lapar Pangan Pembanding

Dari data berat badan mencit harian di atas, dilakukan penghitungan perubahan berat badan mencit setelah melalui perlakuan dua minggu dan empat minggu.

Tabel 4.1 Perubahan Berat Badan Mencit (gram)

Kelompok	Minggu 2		Minggu 4	
	$\Delta 1$	Nilai p*	$\Delta 2$	Nilai p**
Uji	3.67(SD 1.506)	0,461	3.67(SD 2.944)	0.484
Pembanding	4.33(SD 1.506)		2.67 (SD 1.633)	

Kelompok Uji=Kelompok yang mendapat pangan darurat BPPT; Kelompok Pembanding=Kelompok yang mendapat pangan biasa (BR2) dan imunostimulasi ekstrak *Phyllanthus niruri*; $\Delta 1$ = Mean \pm SD Perubahan berat badan setelah perlakuan 2 minggu; $\Delta 2$ = Mean \pm SD Perubahan berat badan setelah perlakuan 4 minggu; * uji hipotesis perubahan berat badan setelah perlakuan 2 minggu; ** uji hipotesis perubahan berat badan setelah perlakuan 4 minggu

Peningkatan berat badan terjadi pada kedua kelompok, baik kelompok uji maupun kelompok pembading. Hasil perbandingan peningkatan berat badan pada kelompok lapar pakan uji dan kelompok lapar pangan pembading tidak memperlihatkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) baik pada lama percobaan selama dua maupun empat minggu. Pernyataan tersebut menunjukkan pertumbuhan yang dialami kelompok hewan coba yang mendapat pangan darurat BPPT tidak berbeda dengan kelompok hewan coba yang mendapat pangan biasa beserta imunomodulator *Phyllanthus niruri*.

4.2 Parameter Respon Imun

Respon imunitas pada hewan coba pada penelitian ini dinilai melalui hasil penghitungan jumlah lekosit, hitung jenis lekosit, dan jumlah IgG total. Hewan coba yang diberikan stress berupa kondisi lapar akan menunjukkan penurunan respon imun baik respon imun alami maupun respon imun adaptif. Penurunan respon imun alami akan nampak pada ketidaknormalan jumlah lekosit dan hitung jenis lekosit. Sedangkan respon imun adaptif dapat terlihat pada penurunan jumlah *subset* limfosit dan kadar IgG yang dihasilkan.

Untuk menilai keberhasilan pangan darurat BPPT dalam meningkatkan respon imun, ketiga variabel terikat yang telah disebutkan di

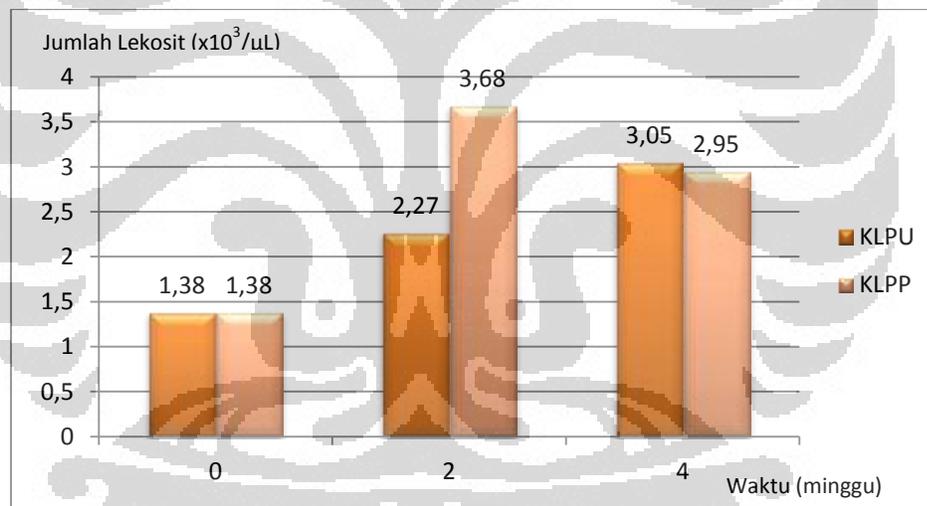
atas dibandingkan dengan kelompok mencit yang diberikan ekstrak *Phyllanthus niruri*, imunomodulator yang sudah dipasarkan di Indonesia. Keberhasilan pangan darurat BPPT dalam meningkatkan respon imun ditunjukkan apabila tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok dengan pangan uji dan kelompok dengan pangan pembanding.

4.2.1 Lekosit

4.2.1.1 Jumlah Lekosit

Dari data kasar yang didapatkan melalui penelitian dilakukan penghitungan rerata jumlah lekosit. Sebaran jumlah lekosit ditunjukkan pada diagram 4.1

Diagram 4.1 Sebaran Jumlah Lekosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)



KLPU= Kelompok Lapar Pangan Uji; KLPP= Kelompok Lapar Pangan Pembanding

Setelah itu dilakukan penghitungan rerata perubahan jumlah lekosit dengan mencari selisih jumlah lekosit pada kelompok mencit lapar yang sudah diberikan perlakuan 2 minggu dan kelompok mencit lapar yang belum diberikan perlakuan, serta selisih jumlah lekosit kelompok mencit lapar yang sudah diberikan perlakuan 4 minggu dan kelompok mencit lapar yang belum diberikan perlakuan.

Tabel 4.2 Perubahan Jumlah Lekosit Hewan Coba setelah Perlakuan

Kelompok	$\Delta 1$	Nilai p*	$\Delta 2$	Nilai p**
Uji	0.88(SD 1.286)	0.168	1.67(SD 3.136)	0.945
Pembanding	2.30(SD 1.945)		1.57(SD 1.412)	

Kelompok Uji=Kelompok yang mendapat pangan darurat BPPT; Kelompok Pembanding=Kelompok yang mendapat pangan biasa (BR2) dan imunostimulasi ekstrak *Phyllanthus niruri*; Mean=nilai rata-rata; SD=Standar deviasi; $\Delta 1$ = Mean \pm SD Perubahan Jumlah Lekosit setelah perlakuan 2 minggu; $\Delta 2$ = Mean \pm SD Perubahan Jumlah Lekosit setelah perlakuan 4 minggu; * uji hipotesis perubahan jumlah lekosit setelah perlakuan 2 minggu; ** uji hipotesis perubahan jumlah lekosit setelah perlakuan 4 minggu

Kedua kelompok, baik kelompok pangan uji dan pakan pembanding, *Phyllanthus niruri*, mengalami peningkatan jumlah lekosit yang ditunjukkan melalui hasil penghitungan selisih jumlah lekosit yang bernilai positif baik pada $\Delta 1$ dan $\Delta 2$. Bila diperhatikan perubahan jumlah lekosit kelompok uji dua minggu setelah mendapat perlakuan tampak lebih rendah dibandingkan kelompok pembanding. Sementara perubahan jumlah lekosit kelompok uji empat minggu setelah mendapat perlakuan lebih tinggi dibandingkan kelompok pembanding. Pada kelompok uji, jumlah lekosit terus mengalami peningkatan hingga minggu keempat. Hal tersebut menunjukkan bahwa polifenol yang terkandung dalam pangan BPPT memerlukan waktu yang lebih panjang untuk mencapai efek yang sama seperti imunomodulator *Phyllanthus niruri* dalam meningkatkan jumlah lekosit.

Fenomena serupa juga ditunjukkan pada penelitian yang dilakukan Srikhun, Aengwanich, Kongbuntad, pada ayam broiler yang mendapat asupan polifenol, bahan yang terkandung dalam pangan darurat BPPT, dengan kadar yang beragam (100mg/kg BB, 200 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, 400mg/kg BB, 500mg/kg BB) pada keadaan *heat stress*. Jumlah lekosit total pada ayam yang diberikan asupan polifenol lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol.⁴⁷

Hasil uji hipotesis pada penelitian ini menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna($p > 0,05$) antara rerata perubahan jumlah lekosit mencit di kelompok uji dengan rerata perubahan jumlah lekosit mencit di kelompok

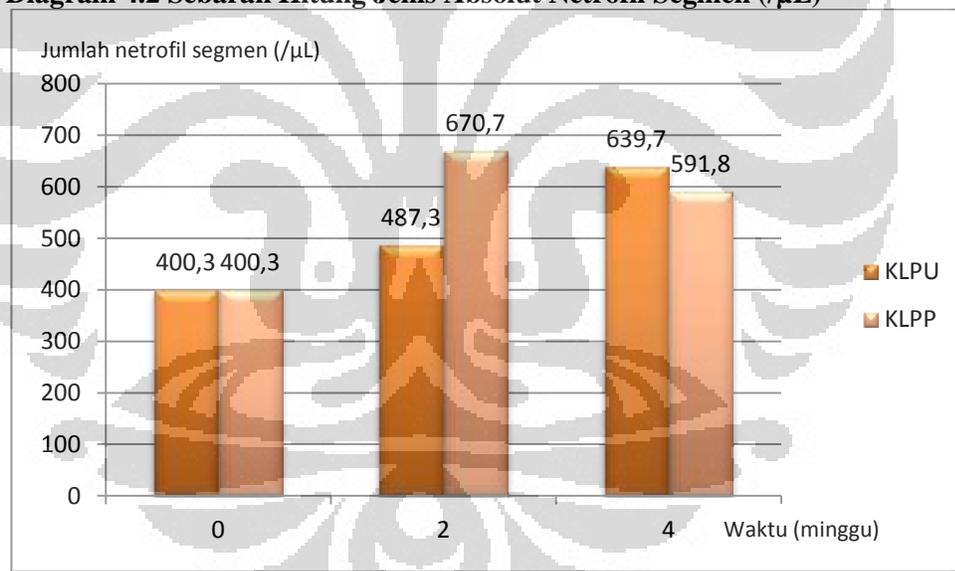
pembandingan. Pernyataan tersebut menunjukkan bahwa peningkatan jumlah leukosit yang dialami kelompok pangan uji sama baiknya dengan peningkatan yang dialami kelompok pangan pembandingan, yakni pakan biasa yang ditambahkan imunomodulator *Phyllanthus niruri*.

4.2.1.2 Jenis Leukosit

Netrofil Segmen

Dari data kasar yang didapatkan melalui penelitian dilakukan penghitungan rerata jumlah netrofil segmen absolut dengan mengalikan jenis netrofil segmen relatif dengan jumlah leukosit total. Sebaran jumlah netrofil segmen ditunjukkan pada diagram 4.2

Diagram 4.2 Sebaran Hitung Jenis Absolut Netrofil Segmen (μL)



KLPU= Kelompok Lapar Pangan Uji; KLPP= Kelompok Lapar Pangan Pembandingan

Setelah itu dilakukan penghitungan rerata perubahan jumlah netrofil segmen dengan mencari selisih netrofil segmen pada kelompok mencit lapar yang sudah diberikan perlakuan 2 minggu dan kelompok mencit lapar yang belum diberikan perlakuan, serta selisih jumlah netrofil segmen pada mencit lapar

yang sudah diberikan perlakuan 4 minggu dan kelompok mencit lapar yang belum diberikan perlakuan.

Tabel 4.3 Perubahan Jumlah Netrofil Segmen Hewan Coba setelah Perlakuan

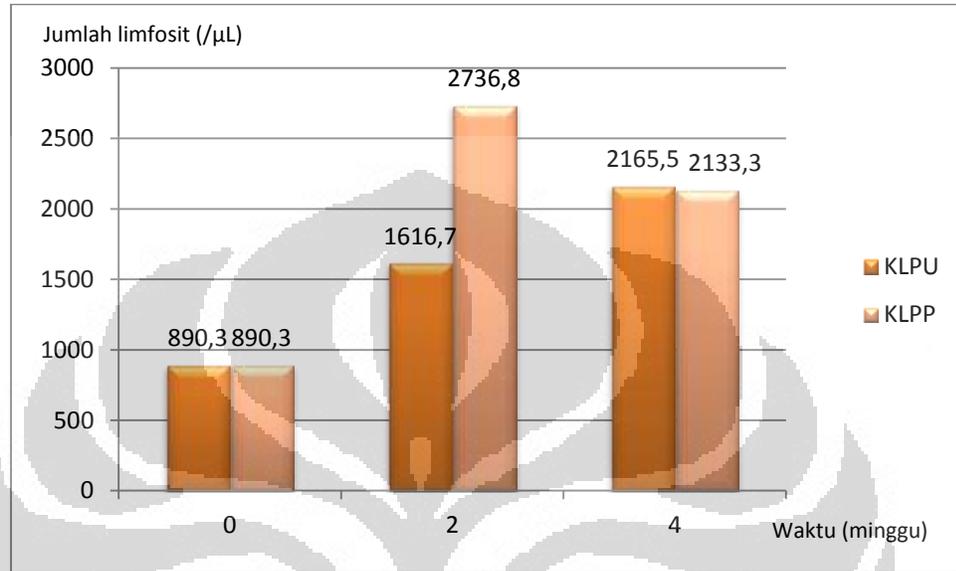
Kelompok	$\Delta 1$	Nilai p^*	$\Delta 2$	Nilai p^{**}
Uji	87 (SD 150.78)	0.486	239.3 (SD 525.64)	0.876
Pembanding	270.3(SD 601.65)		191.5 (SD 513.44)	

Kelompok Uji=Kelompok yang mendapat pangan darurat BPPT; Kelompok Pembanding=Kelompok yang mendapat pangan biasa (BR2) dan imunostimulasi ekstrak *Phyllanthus niruri*; Mean=nilai rata-rata; SD=Standar deviasi; $\Delta 1$ = Mean \pm SD Perubahan jumlah netrofil segmen setelah perlakuan 2 minggu; $\Delta 2$ = Mean \pm SD Perubahan jumlah netrofil segmen setelah perlakuan 4 minggu; * uji hipotesis perubahan jumlah lekosit setelah perlakuan 2 minggu; ** uji hipotesis perubahan jumlah lekosit setelah perlakuan 4 minggu

Tabel di atas menunjukkan bahwa peningkatan jumlah netrofil segmen terjadi pada kelompok uji maupun kelompok pembanding. Seperti yang terjadi pada peningkatan jumlah lekosit, kelompok uji terus memperlihatkan peningkatan jumlah netrofil segmen hingga minggu keempat, sementara kelompok pembanding memperlihatkan peningkatan jumlah netrofil segmen yang lebih tinggi setelah perlakuan 2 minggu. Kemudian menunjukkan penurunan setelah mendapatkan perlakuan 4 minggu. Melalui uji hipotesis perbandingan perubahan jumlah netrofil segmen pada kedua kelompok mencit didapatkan perbedaan yang tidak bermakna pada peningkatan jumlah netrofil segmen antara kelompok mencit lapar yang diberi pangan uji maupun kelompok mencit lapar yang diberi pangan pembanding setelah perlakuan dua maupun empat minggu.

Limfosit

Demikian pula dengan jumlah limfosit absolut diketahui dari hasil perkalian antara hitung jenis limfosit relatif dengan jumlah lekosit total. Sebaran jumlah limfosit ditunjukkan pada diagram 4.3

Diagram 4.3 Sebaran Hitung Jenis Absolut Limfosit

KLPU= Kelompok Lapar Pangan Uji; KLPP= Kelompok Lapar Pangan Pembanding

Rerata perubahan jumlah limfosit juga dicari dengan penghitungan yang sama. Berikut data mengenai perubahan jumlah limfosit hewan coba setelah diberi perlakuan selama 2 dan 4 minggu.

Tabel 4.4 Perubahan Jumlah Limfosit Hewan Coba setelah Perlakuan

Kelompok	$\Delta 1$	Nilai p*	$\Delta 2$			Nilai p**
			Min	Median	Max	
Uji	726.3(SD 1078.00)	0.18	-650	394.5	5860	0.240
Pembanding	1846.5 (SD 1569.60)		500	822.5	2750	

Kelompok Uji=Kelompok yang mendapat pangan darurat BPPT; Kelompok Pembanding=Kelompok yang mendapat pangan biasa (BR2) dan imunostimulasi ekstrak *Phyllanthus niruri*; Mean=nilai rata-rata; SD=Standar deviasi; $\Delta 1$ = Mean \pm SD Perubahan jumlah limfosit setelah perlakuan 2 minggu; $\Delta 2$ = Perubahan jumlah limfosit setelah perlakuan 4 minggu; * uji hipotesis perubahan jumlah limfosit setelah perlakuan 2 minggu; ** uji hipotesis perubahan jumlah limfosit setelah perlakuan 4 minggu

Tabel di atas menunjukkan baik kelompok uji maupun kelompok pembanding memperlihatkan peningkatan jumlah limfosit pada kelompok uji maupun pembanding setelah diberi perlakuan selama dua dan empat minggu. Peningkatan limfosit pada kelompok uji juga berlangsung hingga minggu ke empat, sementara kelompok pembanding menunjukkan peningkatan tertinggi pada minggu ke dua. Peningkatan jumlah limfosit ini menunjukkan adanya

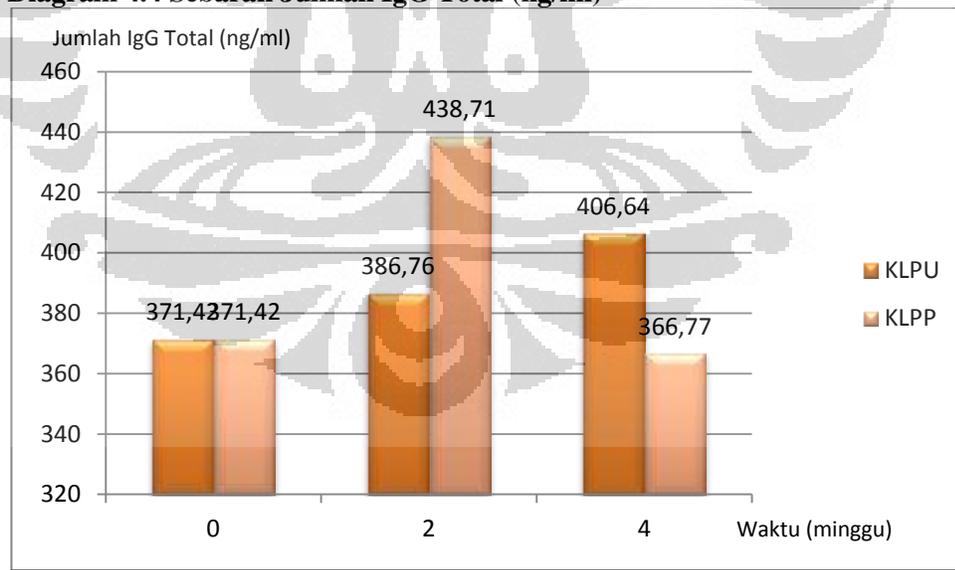
peningkatan kemampuan *limfoproliferative* pada kedua kelompok mencit. Pada penelitian yang dilakukan oleh Alvarez P, Alvarado C, Mathieu F, Jimenez L, Fuente M, mencit yang mengonsumsi polifenol serta dipajankan terhadap mitogen, conA, juga menunjukkan peningkatan kemampuan *limfoproliferative*.²⁰

Dari tabel 4.3 tidak didapatkan hasil berbeda bermakna ($p > 0,05$) pada perbandingan rerata perubahan limfosit antara kelompok uji dan kelompok pembanding. Pernyataan tersebut menunjukkan kemampuan produk pangan darurat BPPT dalam meningkatkan kemampuan limfoproliferative sama baiknya dengan *Phyllanthus niruri*. Demikian pula dalam meningkatkan jumlah netrofil segmen, polifenol sama baiknya dengan *Phyllanthus niruri*.

4.2.2 Imunoglobulin G

Dari hasil spektrofotometri yang telah dikonversi, didapatkan sebaran jumlah IgG total yang ditunjukkan pada diagram 4.4

Diagram 4.4 Sebaran Jumlah IgG Total (ng/ml)



KLPU= Kelompok Lapar Pangan Uji; KLPP= Kelompok Lapar Pangan Pembanding

Rerata perubahan jumlah IgG total juga dihitung dengan mengurangi jumlah IgG total kelompok mencit lapar yang sudah diberi perlakuan dua dan empat

minggu dengan kelompok mencit lapar yang belum diberikan perlakuan. Berikut data mengenai perubahan jumlah IgG total hewan coba setelah diberi perlakuan selama 2 dan 4 minggu.

Tabel 4.5 Perubahan Jumlah IgG Total Hewan Coba setelah Perlakuan (ng/ml)

Kelompok	$\Delta 1$	Nilai p*	$\Delta 2$	Nilai p**
Uji	15.34(SD 154.510)	0.589	35.22(SD 145.573)	0.699
Pembanding	67.29(SD 136.933)		~4.66(SD 167.677)	

Kelompok Uji=Kelompok yang mendapat pangan darurat BPPT; Kelompok Pembanding=Kelompok yang mendapat pangan biasa (BR2) dan imunostimulasi ekstrak *Phyllanthus niruri*; Mean=nilai rata-rata; SD=Standar deviasi; $\Delta 1$ = Mean \pm SD Perubahan jumlah IgG total setelah perlakuan 2 minggu; $\Delta 2$ = Mean \pm SD Perubahan jumlah IgG total setelah perlakuan 4 minggu; * uji hipotesis perubahan jumlah IgG total setelah perlakuan 2 minggu; ** uji hipotesis perubahan jumlah IgG total setelah perlakuan 4 minggu

Peningkatan rerata jumlah IgG total terjadi pada kedua kelompok pada minggu ke dua dimana peningkatan jumlah IgG total lebih tinggi pada kelompok pembanding. Namun, pada minggu keempat rerata jumlah IgG total pada kelompok pangan uji meningkat sementara pada kelompok pembanding justru mengalami penurunan, yang ditandai dengan nilai perubahan jumlah rerata IgG total yang negatif.

Peningkatan reaksi humoral juga terjadi pada penelitian yang dilakukan oleh Qilan Deng, Jing Xu, Bing Yu, Jun He, Keying Zhang, Xuemei Ding, dan Daiwen Chen. Pada babi diberikan stress oksidatif melalui penginjeksian diquat, yakni suatu herbisida, kemudian, hewan percobaan tersebut mengonsumsi polifenol yang berasal dari teh (*tea polyphenol*) selama 7 hari. Hewan coba kemudian menunjukkan peningkatan respon imunitas selular spesifik, disertai peningkatan sitokin inflamasi IL-4. Keberadaan IL-4 menunjukkan adanya pergeseran respon imun dari Th1 menjadi Th-2, dimana Th-2 berperan memicu proliferasi dan diferensiasi dari Limfosit B untuk menghasilkan antibodi.⁴⁸ Dalam buku Imunobiologi, Subowo, IL-4 juga dikatakan berperan untuk meningkatkan respon imun humoral, yakni dalam mengaktifasi limfosit B istirahat agar segera berproliferasi. Proses proliferasi

limfosit B memang tidak hanya diperankan oleh IL-4, tetapi juga sitokin inflamasi lain seperti IL-5 yang berperan untuk pertumbuhan aktif limfosit B, serta IL-6 yang berperan untuk diferensiasi akhir menjadikan limfosit B aktif mensekresikan antibodi.¹⁷

Pada penelitian ini dijumpai perbandingan perubahan jumlah IgG total pada kelompok lapar pakan uji dan kelompok lapar pangan pembanding yang tidak berbeda bermakna, baik setelah perlakuan dua minggu maupun empat minggu. Pernyataan tersebut menunjukkan, meskipun pada minggu kedua peningkatan jumlah IgG pada kelompok pembanding tampak lebih tinggi daripada kelompok uji, tetapi perubahan IgG pada mencit yang diberi pakan uji tidak berbeda bermakna dengan mencit yang diberi pakan pembanding selama dua minggu. Demikian pula perubahan yang terjadi pada minggu ke empat.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

- 6.1.1 Peningkatan jumlah lekosit mencit lapar yang diberi produk pangan darurat BPPT sama baiknya dengan peningkatan jumlah lekosit mencit lapar yang diberi imunomodulator *Phyllanthus niruri*.
- 6.1.2 Perubahan hitung jenis lekosit mencit lapar yang diberi produk pangan darurat BPPT sama baiknya dengan perubahan hitung jenis lekosit m encit lapar yang diberi imunomodulator *Phyllanthus niruri*.
- 6.1.3 Setelah dua minggu perlakuan, peningkatan jumlah IgG total mencit lapar diberi produk pangan darurat BPPT sama baiknya dengan peningkatan jumlah IgG total mencit lapar yang diberi imunomodulator *Phyllanthus niruri*. Setelah empat minggu perlakuan, peningkatan jumlah IgG total hanya terjadi pada mencit lapar yang diberi produk pangan darurat BPPT. Namun meskipun kedua kelompok perlakuan tidak mengalami peningkatan jumlah IgG total, tidak ditemukan perbedaan yang bermakna pada perubahan jumlah IgG antara mencit lapar yang diberi produk pangan BPPT dengan mencit lapar yang diberi imunomodulator *Phyllanthus niruri*.

6.2 Saran

- 6.2.1 Penelitian ini menggunakan hewan coba yang diberi perlakuan selama 4 minggu dengan dua kali observasi yaitu pada minggu ke 2 dan ke 4. Apabila memungkinkan pada penelitian selanjutnya juga dilakukan observasi setiap minggu dengan jangka waktu perlakuan yang lebih lama sehingga mungkin akan didapatkan jangka waktu dimana respon imun hewan coba yang mendapat asupan pangan darurat BPPT mencapai puncaknya.
- 6.2.2 Pada penelitian ini tidak digunakan parameter respon imun yang bersifat kualitatif. Pada penelitian selanjutnya diharapkan juga dilakukan pengukuran respon imun yang bersifat kualitatif, seperti kemampuan limfoproliferatif, kemampuan kemotaksis, CD 4+, CD 8+, dan sebagainya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sherwood L. *Human physiology: from cells to system*. Edisi VI. Belmont: Thomson Brooks/Cole; 2007: p. 409-47.
2. Matondang CS. Perkembangan sistem imun. Dalam: Akib AA, Munasir Z, Kurniati N, editor. Buku ajar alergi imunologi. Edisi II. Jakarta: IDAI; 2008: p. 7-13.
3. Subowo. *Imunobiologi*, Edisi II. Jakarta: Sagung Seto; 2009: p.9-25.
4. Anonimus. Arti definisi/pengertian imunisasi, tujuan, manfaat, cara, dan jenis imunisasi pada manusia [online article]. CPDdokter; 2008. Accessed 17 January 2010. Available from: http://cpddokter.com/home/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=788
5. Mkrtichan M, Ghochikyan A, Movsesyan N, Karapetyan A, Begoyan G, Glenn GM, dkk. Immunostimulant adjuvant patch enhances humoral and cellular immune response to DNA immunization. PMC [online article]. 2008. Accessed 17 January 2010. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2478559/>
6. Hayati S, Maryani E, ManaluM. Ilmu Pengetahuan Sosial: Geografi untuk SMP dan MTs kelas VIII. Jakarta: Erlangga; 2007: p.3-8. Accessed 20 December 2010. Available from: <http://books.google.co.id/books?id=ft8empNUMjIC&pg=PA118&dq>
7. Anonim. Disaster Monitor [online article]. World Vision. Accessed 20 December 2010. Available from: http://www.wvasiapacific.org/downloads/factsheets/Indonesia_web.pdf
8. Wahono T. Letusan Gunung Mematikan Sepanjang Masa. Kompas, 6 November 2010. Accessed 20 December 2010. Available from : <http://sains.kompas.com/read/2010/11/06/07065642/Letusan.Gunung.Mematikan.Sepanjang.Masa>

9. Segerstrom SC, Millier GE. Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. *Psychol Bull.* 2004 July; 130(4): 601–630. doi: [10.1037/0033-2909.130.4.601](https://doi.org/10.1037/0033-2909.130.4.601). Accessed 20 December 2010. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1361287/>
10. Wiguna T. Gangguan stress pasca trauma. In Buku Ajar Psikiatri. Elvira SD, Hadisukanto G, editor. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2010: p. 254-64.
11. Chandra RK. Nutrition and Immune System. *Am J Clin Nutr.* 1997 Aug;66(2):460S-463S. Accessed 20 December 2010. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9250133>
12. Anonimus. Nutrition and Immune System [online article]. *Medical News Today*. Published 23 Sep 2004. Accessed 20 December 2010. Available from: <http://www.medicalnewstoday.com/articles/13904.php>
13. Anonimus. Nutrition and Immune System. Benjamin Association LLC; 2001. Accessed 20 December 2010. Available from: <http://immunesystemetc.com/Nutrition.html>
14. Sears. 8 Foods that Boost Immunity [online article]. Accessed 30 January 2011. Available from: <http://www.askdrsears.com/html/4/t042500.asp>
15. Baratawidjaja KG. Imunomodulasi. In *Imunologi dasar*, Edisi V. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2002: p. 372-90.
16. UNAIR. Konsep Dasar Imunologi [materi kuliah]. Accessed 24 September 2009. Available from: <http://www.ners.unair.ac.id/materikuliah/DASAR%20IMUNOLOGI.pdf>.
17. Subowo. *Imunobiologi*. Edisi II. Jakarta: Sagung Seto; 2009: p.91-4.
18. Vinardell MP, Mitjans M. Immunomodulatory effects of polyphenols. *EJEAFChe*, 7 (8), 2008. [3356-3362]. Accessed 20 December 2010. Available from: http://ejeafche.uvigo.es/component/option,com_docman/task,doc_view/gid,410/Itemid,33

19. Tucsek. Z. Effect of red wine compound on LPS-induced inflammatory processes in vivo and in vitro. Tesis: University of Pecs; 2011. Accessed 20 December 2010. Available from: http://aok.pte.hu/docs/phd/file/dolgozatok/2011/Tucsek_Zsuzsanna_angol_tezis_fuzet.pdf
20. Alvarez P, Alvarado C, Mathieu F, Jimenez L, Fuente M. Diet supplementation for 5 weeks with polyphenol-rich cereals improves several function and the redox state of mouse leucocytes. Published: 11 Oktober 2006. Eur J Nutr (2006) 45:428–438 DOI 10.1007/s00394-006-0616-9. Accessed 20 December 2010. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1705483/>
21. Sjahrurachman A, dkk. Pemberian Terapi Imunomodulator Herbal [online article]. HTA Indonesia. 2004. Accessed 29 September 2009. Available from: http://www.google.co.id/url?sa=t&source=web&ct=res&cd=1&ved=0CAkQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.yanmedik-depket.net%2Fhta%2FHasil%2520Kajian%2520HTA%2F2004%2FPemberian%2520Terapi%2520Imunomodulator%2520Herbal.doc&rct=j&q=Thyagarajan+dkk+%281988%29+XinHua+dkk.+%282001%29+&ei=wDdPS_OeL47i7AO3i_S2CA&usg=AFQjCNEPGFtobh44Fc5mglzJUUpwnizobpw
22. Mrunal DC, Sohil GH, Ashwini JA, Krithika R, Saloni V. *Phyllanthus niruri* [online article]. Pharmainfo. 2008. Accessed 2 December 2009. Available from: <http://www.pharmainfo.net/reviews/phyllanthus-niruriS>.
23. Kiemer AK, Hartung T, Huber C, and Vollmar AM. *Phyllanthus amarus* has anti-inflammatory potential by inhibition of iNOS, COX-2, and cytokines via the NF- κ B pathway. Journal of Hepatology. Sciencedirect 2009;38:89.
24. Anonimus. Pengetahuan produk Stimuno [online article]. Dexa Medica. 1999. Accessed 2 December 2009. Available from: <http://www.stimuno.com/index.php?mod=article&id=90>.

25. Harun SR, Putra ST, Chair I, Sastroasmoro S. Uji Klinis. Dalam buku dasar-dasar metodologi penelitian klinis, edisi 3. Sastroasmoro S, Ismael S, ed. Jakarta: Sagung Seto; 2008: p.166-91
26. OECD. Guideline For Testing of Chemicals. 401 : Acute Oral Toxicity (12 Mei 1981)
27. OECD. Guideline For Testing of Chemicals. 408 : Subchronic Oral Toxicity - Rodent : 90-day Study. (12 Mei 1981)
28. Anonimus. Balb/C. Sage Lab. Accessed 2 December 2009. Available from: <http://www.sageresearchmodels.com/research-models/inbred-mice/balbc>
29. Harlan Laboratorium. Bagg's Albino: BALB/C. Harlan Laboratories, Inc. 2008. Accessed 24 April 2010. Available from: <http://www.harlan.com/download.axd/bbfa4d65a7914e2e8359ff4bf1bbc252.pdf?d=Balbc>
30. ILAR (*Institute of Laboratory Animal Resources*) *Committee on Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the care and use of laboratory animals.* NIH Pub. 1985;86;23.
31. ILAR (*Institute of Laboratory Animal Resources*) *Committee on Standards. Standards for the breeding, care, and management of laboratory rabbits.* Washington DC: *National Academy of Science/National Research Council*; 1965.
32. ILAR (*Institute of Laboratory Animal Resources*) *Committee on Rodents. Laboratory animal management: rodents.* ILAR news. 1977;20;L1-15.
33. Derelanko, M.J. *Handbook of Toxicology.* 2nd edition. New York : CRC Press, 2002.
34. Gay WI. *Methods of animal experimentation. Volume I.* New York: *Academic Press*; 1965. p. 174-91.
35. Gay WI. *Methods of animal experimentation. Volume I.* New York: *Academic Press*; 1965. p. 50-62.

36. Lu, Frank C. Basic Toxicology : Fundamentals, Target Organs, and Risk Assessment – Chapter 6 Conventional Toxicity Studies, 2nd edition. Washington : Hemisphere Publishing Corporation, 1991; p. 77-83.
37. Henry, John B. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods : CHAPTER 29 Basic Examination of Blood and Bone Marrow : Hematology Principles and Procedures. 21st ed. Editor : Richard A. McPherson dan Matthew R.Pincus. China : Elsevier Inc, 2006.
38. Gandasoebrata, R. Penuntun Laboratorium Klinik. Jakarta : Dian Rakyat, 1989; p. 13-5
39. Wirawan, Riadi dan Erwin Silman. Pemeriksaan Laboratorium : Hematologi Sederhana. Edisi 2. Jakarta : Balai Penerbitan FKUI, 2000; p.15-23.
40. Wirawan, Riadi dan Erwin Silman. Pemeriksaan Laboratorium : Hematologi Sederhana. Edisi 2. Jakarta : Balai Penerbitan FKUI, 2000; p. 31-6.
41. Hoffbrand AV, Mehta AB. At a Glance: Hematologi, edisi ke 2. Jakarta: Erlangga;2006: p.10-2
42. Sherwood L. *Human physiology: from cells to system*. Edisi VI. Belmont: Thomson Brooks/Cole; 2007. p. 392-6.
43. Official US Navy. White Blood Cell Differential Count . NAVMED P-5139. Accessed 10 September 2010. Available from:<http://www.brooksidepress.org>
44. Sanchez-Vizcaino JM. Course of Introduction to the Swine Immunology [online article]. 2001. Accessed 30 January 2011. Available from: <http://www.sanidadanimal.info/cursos/inmun/cuarto3.htm>
45. Dugdale DC, Henochowicz SI, Zieve D. Blood Component. Medline Plus. Updated 5/2/2010. Accessed 20 December 2010. Available from: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000821.htm>
46. Virella G, Wang AC. Immunoglobulin structure. In Introduction to Medical Immunology, 4th edition. Editor: Virella G. New York: Marcel Dekker Inc; 1998: p. 80-7
47. Srikhun T, Aengwanich W, Kongbuntad W. Effects of Polyphenols Extracted from Tamarind (*Tamarindus indica* L.) Seed Coat on Body Weight, White

Blood Cells, Bursa of Fabricius and NDV-HI Titer of Broilers under Chronic Heat Stress. *International Journal of Poultry Science* 9 (10): 988-995, 2010.

48. Deng, Qilan , Xu, Jing , Yu, Bing , He, Jun , Zhang, Keying , Ding, Xuemei and Chen, Daiwen. Effect of dietary tea polyphenols on growth performance and cell-mediated immune response of post-weaning piglets under oxidative stress', *Archives of Animal Nutrition*, Vol. 64, No. 1, February 2010, p. 12–21. Cited on <http://dx.doi.org/10.1080/17450390903169138>



LAMPIRAN

Lampiran 1. Etik Penelitian



UNIVERSITAS INDONESIA FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Salemba Raya No. 6 Jakarta Pusat
Poe Box 1356 Jakarta 10430

Kampus Salemba Telp. 31930371, 31930373, 3922977, 3927360, 3912477, 3153236, Fax : 31930372, 3157288, e-mail : office@fk.ui.ac.id

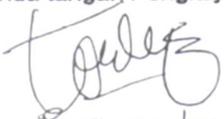
KAJIAN ETIK USULAN RISET MAHASISWA MODUL RISET FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA

Nama Pengkaji : Prof. Dr. Purwantiyastuti, SpFK MSc
Judul Usulan Riset : Uji Efektivitas dan Efektivitas Rangsang Parvut BPT Pada Hewan Coba
Nama tim peneliti : Lingsa Sii Muninggar, Natanya Puspita Tanri, Sari Purnama Hidayat

1. Apakah alasan/motivasi untuk melakukan penelitian ditulis dengan jelas?
Ya / Tidak
2. Apakah tujuan untuk melakukan penelitian ditulis dengan jelas?
Ya / Tidak
3. Apakah manfaat dari hasil penelitian ditulis dengan jelas?
Ya / Tidak
4. Adakah masalah etik yang mungkin akan dihadapi?
Ada / Tidak
5. Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, apakah penelitian di laboratorium dan/atau percobaan pada hewan harus dilakukan terlebih dahulu?
Ya / Tidak
6. Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, adakah bahaya potensial yang langsung atau tidak langsung, segera atau kemudian dan cara-cara untuk mencegah atau mengatasi kejadian (termasuk rasa nyeri dan keluhan lain)?
Ada / Tidak ada
7. Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, adakah dilampirkan contoh surat persetujuan penderita dan rincian informasi yang akan diberikan kepada subyek penelitian)? Ada / Tidak
8. Apakah tim peneliti sudah menjelaskan mengenai penjagaan kerahasiaan data subyek dalam informasi yang diberikan untuk calon subyek penelitiannya? Sudah / Belum

Penelitian ini disetujui / tidak disetujui untuk dilaksanakan, dengan / tanpa perbaikan.

Jakarta, 20 Juni 2010
Tanda tangan Pengkaji Etik:


Purwantiyastuti

Universitas Indonesia

Lampiran 2. Hasil Penelitian

Berat Badan Mencit (gram)

Kelompok Mencit Lapar yang Belum Mendapat Perlakuan

Hari	1
Mencit 1	24
Mencit 2	28
Mencit 3	26
Mencit 4	28
Mencit 5	28
Mencit 6	24

Kelompok Mencit Lapar yang diberi Pakan Uji dalam dua minggu Perlakuan

Hari	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Mencit 1	26	28	30	30	30	30	32	32	32	32	32	32	32	32
Mencit 2	22	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
Mencit 3	26	28	28	28	28	28	28	30	28	28	30	30	30	30
Mencit 4	28	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Mencit 5	26	28	28	28	28	28	30	30	30	30	30	30	30	30
Mencit 6	28	30	30	30	30	30	30	30	30	32	32	32	32	32

Kelompok Mencit Lapar yang diberi Pakan Pembanding dalam dua minggu Perlakuan

Hari	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Mencit 1	24	26	26	26	26	26	26	28	28	28	28	28	30	30
Mencit 2	24	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	28	28	28
Mencit 3	26	28	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Mencit 4	28	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Mencit 5	22	24	24	24	24	24	26	26	26	26	28	28	28	28
Mencit 6	28	30	30	30	30	30	30	32	30	30	32	32	32	32

Kelompok Mencit Lapar yang diberi Pakan Uji dalam empat minggu Perlakuan

Hari	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Mencit 1	30	32	32	32	32	32	32	32	32	32	34	34	34	34
Mencit 2	26	28	30	30	30	30	32	32	32	32	32	32	32	32
Mencit 3	26	28	28	28	28	30	30	30	28	28	28	28	28	28

Mencit 4	26	28	30	30	30	30	32	32	32	32	32	30	30	30
Mencit 5	28	30	30	30	30	32	32	32	30	30	30	30	30	28
Mencit 6	26	26	26	26	28	28	28	28	28	26	26	26	26	28

Hari	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Mencit 1	34	34	34	34	34	34	34	34	34	32	32	32	32	32
Mencit 2	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34
Mencit 3	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Mencit 4	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
Mencit 5	28	28	28	28	28	28	26	26	26	26	26	26	28	28
Mencit 6	28	28	28	28	28	28	26	26	26	26	26	26	28	28

**Kelompok Mencit Lapar yang diberi Pakan Pembanding dalam empat minggu
Perlakuan**

Hari	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Mencit 1	26	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
Mencit 2	26	28	28	28	28	28	28	28	28	28	30	30	30	28
Mencit 3	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	32	32	32	30
Mencit 4	26	28	28	28	28	28	28	28	28	28	30	30	30	30
Mencit 5	30	30	30	30	30	30	32	32	32	32	32	30	30	30
Mencit 6	24	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	24	24

Hari	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Mencit 1	30	30	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	30
Mencit 2	28	28	28	28	28	28	28	26	26	26	26	26	28	28
Mencit 3	30	30	30	30	30	30	28	28	28	28	30	30	30	30
Mencit 4	32	32	30	30	30	30	28	28	28	28	28	28	30	30
Mencit 5	32	32	32	32	30	30	30	30	30	30	30	30	32	32
Mencit 6	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	28	28

Jumlah Leukosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)

Kelompok	Lapar 0	KLPU 2	KLPP 2	KLPU 4	KLPP 4
Mencit 1	1	2.3	2.7	8.6	1.5
Mencit 2	0.9	2.1	1.8	3.4	3.6
Mencit 3	1.1	3.1	3.5	1	5

Mencit 4	1.1	3.3	7.1	1.6	1.8
Mencit 5	1.7	1	2.3	2.3	2.8
Mencit 6	2.5	1.8	4.7	1.4	3

Lapar 0= Kelompok Mencit Lapar yang Belum Mendapat Perlakuan

KLPU2= Kelompok Mencit Lapar yang diberi Pakan Uji dalam empat dua Perlakuan

KLPP2= Kelompok Mencit Lapar yang diberi Pakan Pembanding dalam dua minggu Perlakuan

KLPU4= Kelompok Mencit Lapar yang diberi Pakan Uji dalam empat minggu Perlakuan

KLPP4= Kelompok Mencit Lapar yang diberi Pakan Pembanding dalam empat minggu Perlakuan

Hitung Jenis (μL)

Kelompok	Basofil	eosinofil	batang	segmen	limfosit	Monosit
Lapar 0	0	1	1	47	50	1
	0	0	0	35	65	0
	0	0	4	27	68	1
	0	2	1	27	63	7
	0	0	0	19	73	8
	0	3	1	28	63	5
KLPU2	0	0	2	23	68	7
	0	0	1	18	80	1
	0	2	0	17	68	13
	0	0	2	16	82	0
	0	1	5	44	49	1
	0	1	2	29	64	4
KLPU4	0	0	0	19	74	7
	0	0	1	22	68	9
	0	0	1	26	67	6
	0	0	1	23	71	5
	0	2	1	22	69	6
	0	1	0	23	66	10
KLPP2	0	1	12	9	74	4
	0	0	2	26	72	0
	0	2	1	29	62	6
	0	1	2	20	73	4
	0	1	1	30	61	7
	0	1	1	4	93	1
KLPP4	0	0	1	13	86	0
	1	3	4	13	73	6
	0	0	2	23	70	5
	0	5	3	24	66	2

	0	0	0	37	63	0
	0	5	4	9	81	1

Lapar 0= Kelompok Mencit Lapar yang Belum Mendapat Perlakuan

KLPU2= Kelompok Mencit Lapar yang diberi Pakan Uji dalam empat dua Perlakuan

KLPP2= Kelompok Mencit Lapar yang diberi Pakan Pembanding dalam dua minggu Perlakuan

KLPU4= Kelompok Mencit Lapar yang diberi Pakan Uji dalam empat minggu Perlakuan

KLPP4= Kelompok Mencit Lapar yang diberi Pakan Pembanding dalam empat minggu Perlakuan

Jumlah IgG total

Standar	Absorbance
500.0000	2.72
250.0000	2.05
125.0000	1.34
62.5000	0.81
31.2500	0.45
15.6300	0.25
7.8100	0.14
0.0000	0.06

Kelompok	Lapar 0	KLPU 2	KLPP 2	KLPU 4	KLPP 4
Mencit 1	2.424	over	over	over	Over
Mencit 2	2.6851	2.7132	over	2.8971	2.5291
Mencit 3	2.8339	over	over	over	2.9281
Mencit 4	over	2.672	2.9291	2.9917	2.2001
Mencit 5	2.7184	2.7115	2.4032	1.8718	2.7951

Lampiran 3. Analisis SPSS

Berat Badan

Perlakuan 14 hari

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
pertambahan KLU2	.254	6	.200*	.866	6	.212
KLPP2	.254	6	.200*	.866	6	.212

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Group Statistics

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pertambahan KLU2	6	3.6667	1.50555	.61464
KLPP2	6	4.3333	1.50555	.61464

Independent sample test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
								95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
pertambahan	Equal variances assumed	.000	1.000	-.767	10	.461	-.66667	.86923	-2.60343	1.27009
	Equal variances not assumed			-.767	10.000	.461	-.66667	.86923	-2.60343	1.27009

Perlakuan 28 hari

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
perubahan KLP4	.214	6	.200*	.958	6	.804
KLPP4	.293	6	.117	.822	6	.091

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Group Statistics

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
perubahan KLP4	6	3.6667	2.94392	1.20185
KLPP4	6	2.6667	1.63299	.66667

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
pertam bahan	Equal variances assumed	2.250	.165	.728	10	.484	1.00000	1.37437	-2.06228	4.06228
	Equal variances not assumed			.728	7.811	.488	1.00000	1.37437	-2.18271	4.18271

Universitas Indonesia

Jumlah Lekosit

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
L_delta_2	KLPU	.264	6	.200*	.837	6	.124
	KLPP	.313	6	.068	.819	6	.087
L_delta_4	KLPU	.300	6	.099	.816	6	.081
	KLPP	.296	6	.109	.808	6	.069

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Group Statistics

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	
L_delta_2	KLPU	6	.8833	1.28595	.52499
	KLPP	6	2.3000	1.94525	.79415
L_delta_4	KLPU	6	1.6667	3.13603	1.28028
	KLPP	6	1.5667	1.41233	.57658

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper

L_delta_2 Equal variances assumed	.123	.733	-1.488	10	.168	-1.41667	.95199	-3.53782	.70449
Equal variances not assumed			-1.488	8.669	.172	-1.41667	.95199	-3.58279	.74946
L_delta_4 Equal variances assumed	1.761	.214	.071	10	.945	.10000	1.40412	-3.02858	3.22858
Equal variances not assumed			.071	6.948	.945	.10000	1.40412	-3.22526	3.42526

Jenis Leukosit

Descriptives

Kelompok			Statistic	Std. Error
deltasegmen1	KLPU	Mean	.0870	.06155
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	-.0712	
		Upper Bound	.2452	
		5% Trimmed Mean	.0937	
		Median	.0900	
		Variance	.023	
		Std. Deviation	.15078	
		Minimum	-.18	
		Maximum	.23	
		Range	.41	
		Interquartile Range	.23	
		Skewness	-1.112	.845
		Kurtosis	1.580	1.741

Universitas Indonesia

	KLPP	Mean		.2703	.24562
		95% Confidence Interval for	Lower Bound	-3611	
		Mean	Upper Bound	.9017	
		5% Trimmed Mean		.2664	
		Median		.2600	
		Variance		.362	
		Std. Deviation		.60165	
		Minimum		-.51	
		Maximum		1.12	
		Range		1.64	
		Interquartile Range		1.12	
		Skewness		.148	.845
		Kurtosis		-.882	1.741
deltasegmen2	KLPU	Mean		.2393	.21459
		95% Confidence Interval for	Lower Bound	-3123	
		Mean	Upper Bound	.7910	
		5% Trimmed Mean		.2223	
		Median		.1270	
		Variance		.276	
		Std. Deviation		.52564	
		Minimum		-.38	
		Maximum		1.16	
		Range		1.54	
		Interquartile Range		.74	
		Skewness		1.108	.845
		Kurtosis		1.859	1.741
	KLPP	Mean		.1915	.20961
		95% Confidence Interval for	Lower Bound	-.3473	
		Mean	Upper Bound	.7303	
		5% Trimmed Mean		.1893	

		Median		.1440	
		Variance		.264	
		Std. Deviation		.51344	
		Minimum		-.43	
		Maximum		.85	
		Range		1.28	
		Interquartile Range		1.06	
		Skewness		.198	.845
		Kurtosis		-1.596	1.741
deltalimfo1	KLPU	Mean		.7263	.44009
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-.4050	
			Upper Bound	1.8576	
		5% Trimmed Mean		.7369	
		Median		1.0795	
		Variance		1.162	
		Std. Deviation		1.07800	
		Minimum		-.75	
		Maximum		2.01	
		Range		2.76	
		Interquartile Range		2.03	
		Skewness		-.543	.845
		Kurtosis		-1.356	1.741
	KLPP	Mean		1.8465	.64079
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.1993	
			Upper Bound	3.4937	
		5% Trimmed Mean		1.7932	
		Median		1.4600	
		Variance		2.464	
		Std. Deviation		1.56960	
		Minimum		.16	
		Maximum		4.49	

		Range		4.33	
		Interquartile Range		2.65	
		Skewness		1.006	.845
		Kurtosis		.601	1.741
deltalimfo2	KLPU	Mean		1.2752	.97226
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-1.2241	
			Upper Bound	3.7744	
		5% Trimmed Mean		1.1272	
		Median		.3945	
		Variance		5.672	
		Std. Deviation		2.38154	
		Minimum		-.65	
		Maximum		5.86	
		Range		6.52	
		Interquartile Range		2.98	
		Skewness		1.904	.845
		Kurtosis		3.799	1.741
	KLPP	Mean		1.2430	.38082
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.2641	
			Upper Bound	2.2219	
		5% Trimmed Mean		1.2007	
		Median		.8225	
		Variance		.870	
		Std. Deviation		.93282	
		Minimum		.50	
		Maximum		2.75	
		Range		2.26	
		Interquartile Range		1.70	
		Skewness		1.111	.845
		Kurtosis		-.480	1.741

Tests of Normality

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
deltasegmen1	KLPU	.260	6	.200 [*]	.877	6	.256
	KLPP	.129	6	.200 [*]	.985	6	.975
deltasegmen2	KLPU	.209	6	.200 [*]	.930	6	.578
	KLPP	.197	6	.200 [*]	.924	6	.538
deltalimfo1	KLPU	.290	6	.126	.895	6	.345
	KLPP	.255	6	.200 [*]	.925	6	.539
deltalimfo2	KLPU	.303	6	.089	.780	6	.039
	KLPP	.328	6	.043	.815	6	.081

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Normalitas perubahan limfosit 4 minggu $<0,05$. Dilakukan transform dengan menggunakan logaritma

Case Processing Summary

Kelompok		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
transform_limfo2	KLPU	4	66.7%	2	33.3%	6	100.0%
	KLPP	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%

Missing 2 data. Oleh sebab itu analisis perubahan limfosit setelah 4 minggu perlakuan menggunakan uji *non-parametric*

Group Statistics

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
deltasegmen1	6	.0870	.15078	.06155
	6	.2703	.60165	.24562

deltasegmen2	KLPU	6	.2393	.52564	.21459
	KLPP	6	.1915	.51344	.20961
deltalimfo1	KLPU	6	.7263	1.07800	.44009
	KLPP	6	1.8465	1.56960	.64079

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Delta segmen 2Minggu	Equal variances assumed	6.998	.025	-.724	10	.486	-.18333	.25322	-.74754	.38088
	Equal variances not assumed			-.724	5.626	.498	-.18333	.25322	-.81308	.44641
Delta segmen 4Minggu	Equal variances assumed	.015	.905	.159	10	.876	.04783	.29998	-.62056	.71622
	Equal variances not assumed			.159	9.994	.876	.04783	.29998	-.62061	.71627
Delta limfo 2Minggu	Equal variances assumed	.632	.445	-1.441	10	.180	-1.12017	.77736	-2.85223	.61190
	Equal variances not assumed			-1.441	8.858	.184	-1.12017	.77736	-2.88297	.64264

Universitas Indonesia

Test Statistics^b

	deltalimfo2
Mann-Whitney U	10.000
Wilcoxon W	31.000
Z	-1.281
Asymp. Sig. (2-tailed)	.200
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.240 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

IgG Total

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
Perubahan IgG stlh 2 Minggu	KLPU	.176	5	.200 [*]	.963	5	.827
	KLPP	.248	5	.200 [*]	.871	5	.272
Perubahan IgG stlh 4 Minggu	KLPU	.165	5	.200 [*]	.978	5	.926
	KLPP	.229	5	.200 [*]	.947	5	.718

a. Lilliefors Significance Correction

Group Statistics

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	
Perubahan IgG stlh 2 Minggu	KLPU	5	15.3360	154.51015	69.09904
	KLPP	5	67.2860	136.93344	61.23850
Perubahan IgG stlh 4 Minggu	KLPU	5	35.2200	145.57337	65.10239
	KLPP	5	-4.6580	167.67739	74.98761

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
lg_1	Equal variances assumed	.017	.901	-.563	8	.589	-51.95000	92.33001	-264.86339	160.96339
	Equal variances not assumed			-.563	7.886	.589	-51.95000	92.33001	-265.39986	161.49986
lg_2	Equal variances assumed	.003	.956	.402	8	.699	39.87800	99.30490	-189.11950	268.87550
	Equal variances not assumed			.402	7.845	.699	39.87800	99.30490	-189.90792	269.66392

Lampiran 4. Curriculum Vitae

Nama Lengkap : Sari Purnama Hidayat
Tempat, Tanggal Lahir : Jakarta, 20 April 1990
Fakultas : Kedokteran
Universitas : Universitas Indonesia
Angkatan : 2008
NPM : 0806451536
Telepon : 021-4502853
Asal Sekolah : SD Kristen 6 BPK Penabur Jakarta
SLTP Kristen 4 BPK Penabur Jakarta
SMA Kristen 5 BPK Penabur Jakarta

Universitas Indonesia