



UNIVERSITAS INDONESIA

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS PRODUK PANGAN PADAT
GIZI MENGANDUNG POLIFENOL DENGAN PRODUK
PANGAN PADAT GIZI TANPA POLIFENOL DALAM
MENINGKATKAN RESPON IMUN MENCIT**

SKRIPSI

**ATIKA
0806315023**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS PRODUK PANGAN PADAT
GIZI MENGANDUNG POLIFENOL DENGAN PRODUK
PANGAN PADAT GIZI TANPA POLIFENOL DALAM
MENINGKATKAN RESPON IMUN MENCIT**

SKRIPSI

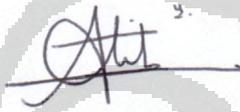
Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran

**ATIKA
0806315023**

**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 : Atika
NPM : 0806315023
Tanda tangan : 
Tanggal : 18 Agustus 2011

HALAMAN PENGESAHAN

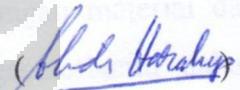
Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Atika
NPM : 0806315023
Program Studi : Pendidikan Dokter Umum
Judul Skripsi : Perbandingan Efektivitas Produk Pangan Padat Gizi
Mengandung Polifenol dengan Produk Pangan Padat Gizi
tanpa Polifenol Dalam Meningkatkan Respon Imun
Mencit

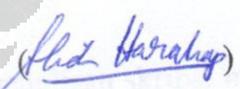
Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar sarjana pada Program Pendidikan Dokter Umum Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : dr. Alida Roswita Harahap DMM, Sp.PK, PhD



Penguji : dr. Alida Roswita Harahap DMM, Sp.PK, PhD



Penguji : Prof. Dr. dr. Rianto Setiabudy, 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. Penyusunan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran pada Program Pendidikan Dokter Umum Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Penulis juga mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada pihak yang telah membantu dan membimbing selama penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Alida Harahap Sp.PK, yang telah membimbing penulis dalam melakukan penelitian ini. Dalam bimbingan melakukan penelitian, penulis juga berterima kasih pada Prof. Dr. dr. Purwastyastuti, Sp.FK, MSc, yang telah memberikan banyak pengajaran sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Dr. dr. Saptawati Bardosono, MSc, sebagai Ketua Modul Riset FKUI yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melaksanakan penelitian ini. Akhirnya, penulis mengucapkan penghargaan yang tak terhingga kepada orang tua dan keluarga yang tanpa lelah memberikan dukungan material dan moral. Dengan dukungan pihak-pihak diatas, penulis sangat terbantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu kedokteran dan memberi manfaat kepada masyarakat.

Jakarta, 18 Agustus 2011

Atika

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA
ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Atika
NPM : 0806315023
Program Studi : Pendidikan Dokter Umum
Fakultas : Kedokteran
Jenis karya : Skripsi

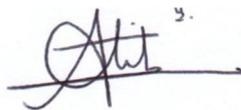
Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif (*Non-Exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul: "Perbandingan Efektivitas Produk Pangan Padat Gizi Mengandung Polifenol dengan Poduk Pangan Padat Gizi tanpa Polifenol Dalam Meningkatkan Respon Imun Mencit" beserta perangkat yang ada (bila diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, 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,



Atika

ABSTRAK

Nama : Atika
Program Studi : Pendidikan Dokter Umum
Judul : Perbandingan Efektivitas Produk Pangan Padat Gizi Mengandung Polifenol dengan Produk Pangan Padat Gizi tanpa Polifenol Dalam Meningkatkan Respon Imun Mencit

BPPT (Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi) memproduksi suatu bahan pangan padat gizi mengandung polifenol, yang ditujukan bagi korban bencana alam yang rentan akan kondisi penurunan respon imun akibat kelaparan. Polifenol, pada beberapa penelitian disebutkan dapat meningkatkan respon imun. Sebelum dikonsumsi, perlu dilakukan penelitian untuk melihat bukti efektivitas pangan ini terhadap respon imun. Penelitian dilakukan dengan menggunakan desain eksperimental. Sebanyak 24 mencit dibuat dalam kondisi lapar selama satu minggu. Lalu 6 ekor mencit diambil datanya sebagai acuan kondisi awal. Kemudian sisa mencit dibagi dalam tiga kelompok perlakuan. Setiap kelompok, tetap dalam kondisi lapar, akan mengonsumsi bahan tambahan yang berbeda. Kelompok pertama diberikan produk pangan padat gizi mengandung polifenol, sedangkan kelompok kedua diberikan produk pangan padat gizi tanpa polifenol, untuk melihat apakah polifenol memang mempunyai efek atau produk pangan padat gizi saja sudah dapat meningkatkan respon imun. Sebagai tambahan perbandingan, maka kelompok ketiga diberikan imunostimulan *Phyllanthus niruri*. Setelah 4 minggu dilakukan pengambilan data. Sebagai indikator respon imun digunakan data jumlah dan hitung jenis leukosit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ditemukan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) pada perbandingan perubahan jumlah leukosit dan hitung jenisnya dari ketiga kelompok perlakuan. Disimpulkan bahwa bahan pangan padat gizi mengandung polifenol belum menunjukkan bukti efektivitas yang lebih tinggi terhadap respon imun dibandingkan tanpa mengandung polifenol, namun bahan pangan padat gizi ini sudah cukup baik karena menghasilkan efek seperti imunostimulan *Phyllanthus niruri*.

Kata kunci: Polifenol, Respon Imun, Imunostimulan, *Phyllanthus niruri*

ABSTRACT

Name : Atika
Study Program : General Medicine
Title : Comparison of Effectiveness of Nutrient-rich Food Product with Polyphenol with Nutrient-rich Food Product without Polyphenol in Enhancing Immune Response in Mice

BPPT (Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi) produced a nutrient-rich food product with polyphenols, for disaster victims that vulnerable to condition of depressing immune response because of starvation. Polyphenols, in some research could enhance immune response. Before applying, this food product needs a research to prove the effectiveness toward immune response. Research was done with experimental design. 24 mices set in starving condition in one week. Then 6 mices were taken to get the beginning data. And then, the rest of mices was divided into three groups. Every group, stayed in starving condition, was given different additional materials. First group was given the nutrient-rich food product with polyphenols, and the second group was given the nutrient-rich food product but without polyphenols, to see whether the polyphenols gave the desired effect or the nutrient-rich food product alone could enhance immune response. For additional comparison, the third group was given the immunostimulant *Phyllanthus niruri*. The data was taken after 4 weeks. Total leukocyte and leukocyte differential count were used to be the indicator of immune response. The result showed that there is no significant differences ($p > 0,05$) in comparison of the change of total and differential count of leukocyte from the three groups. In conclusion, the nutrient-rich food product with polyphenols not yet show a significant effectiveness in immune response than without polyphenols, but this food product had been good enough because resulting the similar effect as immunostimulant *Phyllanthus niruri*.

Keywords: Polyphenols, Immune Response, Immunostimulant, *Phyllanthus niruri*

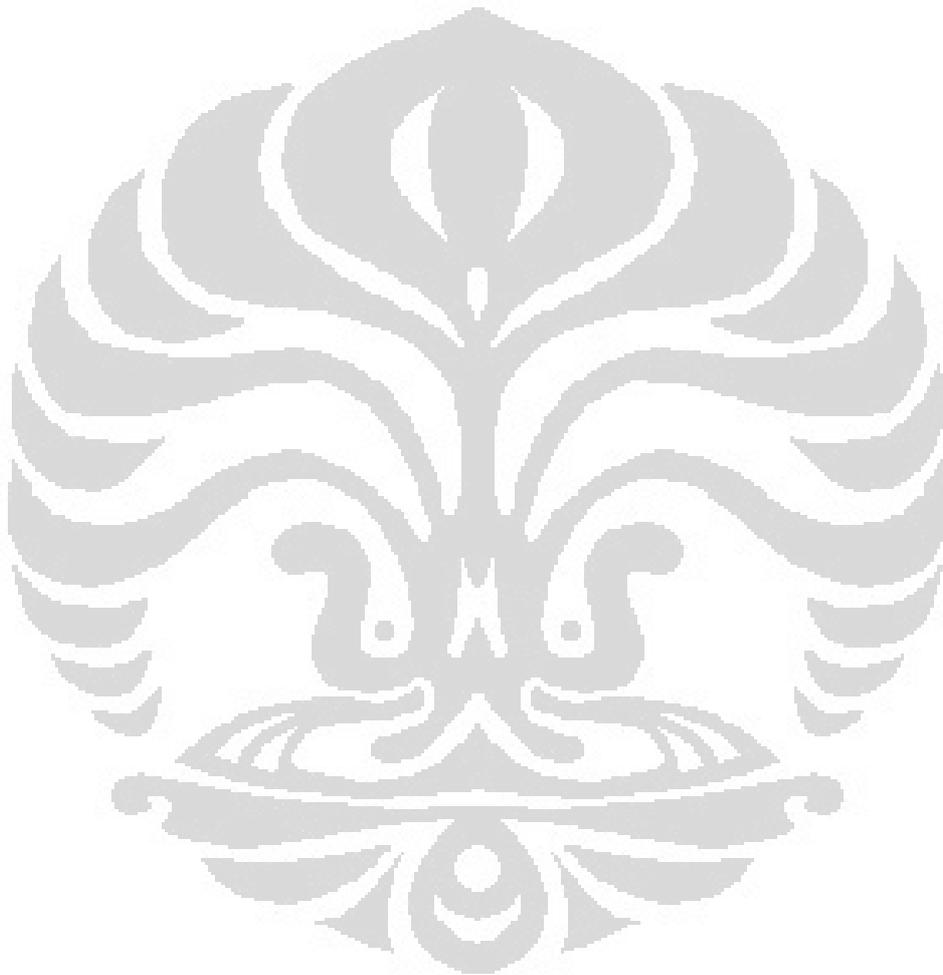
DAFTAR ISI

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 TABEL	x
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Hipotesis	3
1.4. Tujuan Umum	3
1.5. Tujuan Khusus	4
1.6. Manfaat Penelitian	4
1.6.1. Bagi peneliti	4
1.6.2. Bagi perguruan tinggi	4
1.6.3. Bagi masyarakat	4
1.6.4. Bagi pemerintah	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Imunitas	5
2.1.1. Pengertian dan Klasifikasi	5
2.1.1.1. Imunitas Natural	6
2.1.1.2. Imunitas Adaptif	7
2.1.1.2.1. Komponen Seluler Imunitas Spesifik	8
2.1.1.2.2. Komponen Humoral Imunitas Spesifik	9
2.2. Pengaruh Nutrisi terhadap Imunitas	11
2.3. Imunopotensiasi	14
2.3.1. Polifenol	14
2.3.2. <i>Phyllanthus niruri</i>	15
2.4. Produk Pangan Padat Gizi BPPT	16
2.5. Protokol Uji Efektivitas	16
2.5.1. Metode	16
2.5.2. Prinsip Metode Tes	17
2.5.3. Deskripsi Prosedur Tes	17
2.5.3.1. Persiapan	17
2.5.3.2. Hewan Percobaan	17
2.5.3.3. Jumlah dan Jenis Kelamin	19
2.5.3.4. Kondisi Kandang	20
2.5.4. Prosedur	20
2.5.4.1. Pengukuran Dosis	20

2.5.4.2.Pemeriksaan Klinis	21
2.5.4.3.Pemeriksaan Hematologi	21
2.6. Kerangka Konsep.....	23
3. METODOLOGI PENELITIAN.....	24
3.1. Desain Penelitian	24
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian.....	24
3.3. Sampel Penelitian.....	24
3.3.1. Jenis dan Besar Sampel	24
3.3.2. Pengelompokan Sampel.....	25
3.3.3. Pengelolaan Kandang Hewan	25
3.4. Cara Kerja.....	26
3.5. Identifikasi Variabel.....	27
3.5.1. Variabel Bebas	27
3.5.2. Variabel Terikat	27
3.6. Pengambilan Data	27
3.7. Manajemen data dan Analisis	27
3.8. Definisi Operasional	28
3.9. Masalah Etika	28
4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	29
4.1. Perubahan Jumlah Leukosit.....	29
4.2. Perubahan Hitung Jenis Leukosit	31
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN.....	40

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Parameter Berat Badan, Hematologi, dan Biokimia Mencit Balb/C...19
Tabel 2.2 Kisaran Ukuran Kandang Untuk Hewan Coba.....20
Tabel 4.1 Persebaran Data Perubahan Jumlah Leukosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$).....29
Tabel 4.2 Persebaran Data Perubahan Hitung Jenis Leukosit (%jumlah).....31
Tabel 4.3 Persebaran Data Perubahan Jumlah Netrofil Segmen dan Limfosit....33



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Imunitas didefinisikan sebagai ketahanan terhadap serangan penyakit.¹ Kumpulan komponen seperti molekul, sel, hingga jaringan yang memberi tubuh kemampuan menahan dan membuang hal-hal yang berbahaya bagi tubuh ini disebut sistem imun.^{1,2}

Berdasarkan mekanismenya, respon imun terbagi menjadi respon imun non spesifik dan respon imun spesifik.^{2,3} Mekanisme pertahanan non spesifik (disebut juga imunitas alamiah) merupakan imunitas yang sudah ada sejak lahir dan pertahanannya ditujukan untuk berbagai macam antigen.³ Tugasnya adalah memberikan proteksi yang pertama atas suatu ancaman bagi tubuh.¹ Yang termasuk pertahanan tubuh jenis ini adalah kulit dan mukosa tubuh, enzim-enzim dan silia permukaan, makrofag, leukosit, komplemen, dan sel NK.^{1,3}

Sedangkan mekanisme pertahanan spesifik (disebut juga imunitas adaptif) merupakan mekanisme pertahanan yang ditujukan khusus terhadap satu jenis antigen, dan mekanisme ini butuh pengenalan/ kontak awal dengan antigen sebelum menghasilkan respon.³ Mekanisme ini memang berkembang lebih lambat namun lebih efektif.¹ Pertahanan ini terdiri dari sel limfosit T dan limfosit B, serta komponen humoral berupa antibodi yang dihasilkan dari diferensiasi sel limfosit B.^{1,3}

Pentingnya sistem imun untuk kesehatan, diilustrasikan secara jelas dalam observasi berkala yang dilakukan pada orang-orang dengan defek sistem imun, dimana ditemukan adanya kerentanan terhadap infeksi berbahaya.¹ Hal ini menjelaskan bagaimana suatu usaha melakukan pengaturan atas sistem imun (imunomodulasi) diterapkan untuk menormalkan sistem imun tubuh manusia.⁴ Berdasarkan macamnya, imunomodulasi bisa terbagi dalam dua jenis yaitu immunosupresi (bila targetnya adalah menekan

fungsi imun yang berlebihan) dan imunopotensiasi (bila tujuannya adalah merangsang sistem imun).⁴

Imunopotensiasi menggunakan suatu bahan yang merangsang fungsi imun, bahan-bahan ini disebut imunostimulan.⁴ Imunostimulan tidak hanya mempengaruhi respon imunitas seluler, tapi juga respon imunitas humoral.⁵ Adanya zat-zat seperti ini tentunya menguntungkan, bila kita mengingat kembali peranan sistem imun yang menguatkan tubuh kita dari ancaman serangan penyakit.¹ Lebih-lebih lagi zat-zat ini akan membantu pertahanan tubuh, saat tubuh mengalami kemungkinan penurunan asupan gizi seperti yang dialami pengungsi akibat bencana alam.⁶

Tidak dapat dipungkiri bahwa keadaan geografis Indonesia sangat kompleks dan rawan mengalami bencana alam. Bencana alam yang terjadi dapat memutuskan jalur distribusi sehingga menyulitkan masyarakat memperoleh makanan.⁶

Titik kritis suatu bencana adalah saat terjadi kekurangan gizi diantara pengungsi.⁶ Kondisi kelaparan ini kemudian akan berujung dalam kondisi penurunan sistem imun, suatu hal yang sangat tidak diharapkan. Salah satu cara untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan merancang pangan yang dapat memenuhi kebutuhan manusia dalam keadaan darurat.⁶ Kemudian bila ditambahkan efek imunostimulan pada pangan darurat seperti ini tentu akan sangat baik. Hal inilah yang sedang dikembangkan BPPT (Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi) yaitu membuat sebuah produk pangan padat gizi yang mengandung polifenol, suatu zat aktif yang diduga dapat meningkatkan sistem imun manusia sehingga dapat berguna dalam kondisi darurat. Secara *in vitro* produk ini telah terbukti dapat meningkatkan respon imun, dan produk ini juga telah terbukti aman melalui uji toksisitas yang dilakukan sebelumnya. Sebelum digunakan pada manusia, maka perlu dilakukan pengujian atas efek imunostimulan yang terkandung dalam produk pangan padat gizi keluaran BPPT tersebut secara *in vivo* pada hewan coba. Untuk itulah penelitian dengan judul “Perbandingan Efektivitas Produk Pangan Padat Gizi Mengandung Polifenol dengan Produk Pangan Padat Gizi tanpa Polifenol Dalam Meningkatkan

Respon Imun Mencit” ini dilaksanakan. Untuk mendapatkan bukti efektivitas yang lebih meyakinkan dilakukan perbandingan dengan produk pangan padat gizi BPPT namun tanpa polifenol. Dengan begitu akan terlihat apakah polifenol memberikan efek yang diharapkan, atau produk pangan padat gizi saja sudah cukup untuk meningkatkan respon imun dengan memperbaiki kondisi kelaparan. Sebagai tambahan maka juga dilakukan perbandingan dengan produk imunostimulan yang sudah lama dipasarkan yang mengandung *Phyllanthus niruri*. Adapun respon imun akan diukur berdasarkan jumlah leukosit serta hitung jenis leukosit mencit.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan perubahan respon imun mencit dalam kondisi kelaparan yang diberikan produk pangan padat gizi mengandung polifenol, dengan pemberian produk pangan padat gizi tanpa polifenol?

1.3 Hipotesis

1.3.1 Respon imun mencit yang diberikan produk pangan padat gizi mengandung polifenol memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan mencit yang diberi produk pangan padat gizi tanpa polifenol.

1.3.2 Respon imun mencit yang diberikan produk pangan padat gizi mengandung polifenol memberikan hasil yang sama dengan mencit yang diberi imunostimulan *Phyllanthus niruri*.

1.4 Tujuan Umum

Mengetahui efek pemberian produk pangan padat gizi mengandung polifenol terhadap respon imun mencit dibandingkan dengan pemberian produk pangan padat gizi tanpa mengandung polifenol.

1.5 Tujuan Khusus

- 1.5.1 Mengetahui perbandingan perubahan jumlah leukosit mencit yang diberi produk pangan padat gizi mengandung polifenol dan tanpa mengandung polifenol serta dengan imunostimulan *Phyllanthus niruri*.
- 1.5.2 Mengetahui perbandingan perubahan hitung jenis leukosit mencit yang diberi produk pangan padat gizi mengandung polifenol dan tanpa mengandung polifenol serta dengan imunostimulan *Phyllanthus niruri*.

1.6 Manfaat Penelitian

- 1.6.1 Bagi peneliti
 - a. Mendapatkan pengalaman dan pengetahuan dalam melakukan penelitian dan menganalisis masalah kesehatan.
 - b. Mengembangkan daya nalar, analisis, minat, dan kemampuan dalam bidang penelitian.
 - c. Mengaplikasikan ilmu tentang penelitian yang telah didapat.
- 1.6.2 Bagi perguruan tinggi
 - a. Sebagai perwujudan Tri Dharma Perguruan Tinggi.
 - b. Mewujudkan visi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia 2014
 - c. Sarana dalam menjalin kerjasama antara staf pengajar, mahasiswa, pimpinan fakultas, dan universitas.
- 1.6.3 Bagi masyarakat

Memberi pengetahuan kepada masyarakat mengenai manfaat produk pangan padat gizi untuk pertolongan awal keadaan bencana.
- 1.6.4 Bagi pemerintah

Memberikan masukan mengenai manfaat pangan padat gizi untuk keadaan darurat dengan efek imunostimulan, pada pertolongan awal korban bencana

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Imunitas

2.1.1 Pengertian dan Klasifikasi

Imunitas secara singkat didefinisikan sebagai resistensi terhadap penyakit.¹ Sebab dengan adanya imunitas, terjadi reaksi tubuh untuk melawan benda asing yang masuk kedalam tubuh.^{2,7} Kumpulan sel-sel, jaringan, maupun molekul yang memediasi imunitas ini disebut sistem imun, karena bermacam-macam komponen itulah yang berperan dalam mengenali, menghancurkan, hingga menetralsir bahan-bahan berbahaya.^{1,2} Berikut adalah fungsi dari sistem imun²:

- Melawan patogen yang menginvasi (seperti virus dan bakteri yang menyebabkan penyakit)
- Membuang sel yang sudah tua (misalnya sel darah merah tua) dan sisa-sisa sel (misalnya sisa kerusakan jaringan karena trauma)
- Mengidentifikasi dan menghancurkan sel abnormal yang berasal dari tubuh (misalnya hasil mutasi), maupun berasal dari luar (misalnya hasil transplantasi).

Imunitas terbagi menjadi dua, yaitu imunitas natural (*innate immunity*) dan imunitas adaptif (*acquired immunity*). Imunitas natural, yang disebut juga imunitas non-spesifik, merupakan mekanisme pertahanan yang tidak ditujukan hanya untuk satu jenis antigen, melainkan untuk berbagai macam. Imunitas ini sudah ada sejak lahir dan terdiri atas berbagai elemen non spesifik. Sedangkan imunitas adaptif, atau imunitas spesifik, adalah mekanisme pertahanan yang ditujukan khusus terhadap satu jenis antigen, sehingga tidak berperan dalam antigen jenis lain. Imunitas jenis ini butuh kontak dulu terhadap antigen sasaran, jadi tidak terbentuk sejak lahir.^{1,3} Imunitas spesifik juga memiliki memori yang memungkinkannya meningkatkan respon saat

terpapaj antigen yang sama untuk kedua kalinya.⁸ Imunitas natural, memediasi proteksi awal melawan benda asing, sedangkan imunitas adaptif berkembang lebih lambat, namun proteksinya semakin efektif.¹

2.1.1.1 Imunitas Natural

Imunitas ini dimiliki orang setiap orang yang sehat. Sifatnya melakukan blok dan mengeliminasi mikroba yang berhasil masuk kedalam jaringan.¹ Yang termasuk sebagai imunitas natural adalah:

- Inflamasi, suatu respon nonspesifik pada luka jaringan dimana sel fagosit (netrofil dan makrofag) menjadi pemeran utama, bersama beberapa sel imun lain yang mendukung
- Interferon, suatu protein yang secara spesifik menghadapi infeksi virus
- Sel *Natural Killer*, sel yang menyerupai limfosit yang utamanya menyerang sel virus dan sel kanker
- Sistem komplemen, suatu kelompok plasma protein inaktif yang saat diaktifkan akan menghancurkan sel asing dengan menyerang dengan menyerang membran mereka.

Pertahanan pertama imunitas natural diberikan oleh epitel sebagai barier tubuh, sel/ komponen khusus yang ada diantara epitel, serta hasil sekresinya. Kesemuanya menjadi pertahanan awal yang mencegah masuknya kuman patogen. Contohnya kulit, mukosa tubuh, selaput lendir, dan silia saluran napas, pertahanannya bersifat fisik. Sedangkan yang bersifat terlarut adalah lisozim dalam keringat, ludah, air mata, dan air susu, serta asam hidroklorida (HCl) pada cairan lambung^{1,2}

Bila mikroba bisa merusak epitel dan masuk kedalam jaringan, maka akan dihadapi oleh sel-sel fagosit (seperti sel makrofag dan sel netrofil), sel khusus yang menyerupai limfosit yang disebut *Natural Killer*, serta beberapa komponen protein

yang mendukung yaitu sistem komplemen dan interferon seperti yang telah dijelaskan diatas.^{1,2,8}

2.1.1.2 Imunitas Adaptif

Walaupun imunitas natural bisa diandalkan melawan patogen yang menyerang manusia, adakalanya patogen itu begitu kuat sehingga masih diperlukan pertahanan lanjutan. Pertahanan itu adalah imunitas adaptif. Bila mekanisme sistem imun natural mengenali struktur yang dimiliki kelas-kelas mikroba, maka sel-sel imunitas adaptif (sel-sel limfosit) menunjukkan reseptor yang mengenali substansi spesifik yang dimiliki oleh mikroba/molekul tertentu, yang disebut antigen. Tiap mikroba pastinya menghasilkan substansi yang berbeda, maka macam-macam limfosit pula yang diperlukan untuk menghadapinya, tidak seperti imunitas natural yang sama untuk semua mikroba.^{1,2}

Imunitas adaptif memiliki beberapa sifat khusus yang membedakannya dengan sistem imunitas natural, yaitu spesifik dan memiliki memori. Spesifik berarti imunitas ini bisa membedakan antigen dari sekian banyak yang dimiliki mikroba. Basis dari kemampuan ini adalah adanya reseptor yang didistribusi secara klonal, total populasi limfosit terdiri dari banyak klon dan tiap klon itu menunjukkan reseptor antigen yang berbeda dari klon lain. Kompleks spesifik mikroba yang bisa dikenali limfosit disebut determinan atau epitop.^{1,2}

Memori berarti adanya kemampuan untuk mengenali antigen yang sebelumnya sudah pernah ditemukan, bahkan bisa meningkatkan efektivitas perlawanannya lebih besar lagi. Respon awal terhadap antigen disebut sebagai respon imun primer, dimediasi oleh limfosit yang naïf (belum pernah bertemu antigen sebelumnya). Sedangkan pertemuan yang kedua kali disebut

respon imun sekunder, yang lebih cepat, lebih besar dan lebih efektif untuk mengeliminasi antigen. Hal ini bisa dilakukan karena adanya sel limfosit yang memiliki memori, yang hidup dalam jangka waktu lama.¹

Komponen imunitas adaptif terdiri dari komponen seluler dan komponen humoral. Keduanya memiliki peran pertahanan pada lokasi dan jenis antigen yang berbeda.^{1,2}

2.1.1.2.1 Komponen Seluler Imunitas Spesifik

Komponen seluler imunitas spesifik diperankan oleh limfosit T, dengan atau tanpa bantuan komplemen dan sistem imun lainnya. Limfosit T adalah limfosit yang berasal dari sel pluripotensial disussum tulang yang memerlukan lingkungan timus untuk menjadi limfosit matur. Didalam timus, sel prekursor limfosit T akan mengekspresikan molekul tertentu pada permukaan membrannya yang akan menjadi ciri limfosit T. Molekul-molekul pada permukaan membran ini dinamakan juga petanda permukaan yang diberi huruf CD (*cluster of differentiation*).³

Secara garis besar, limfosit T matur yang masuk peredaran darah terdiri atas limfosit T dengan petanda CD4 dan limfosit T dengan petanda CD8. Berikut adalah beberapa jenis sel limfosit T²:

- **sel T Naif (*virgin*):** berada dalam kelenjar limfoid perifer, dilepaskan dari timus tanpa melewati proses diferensiasi. Barulah setelah menemukan antigen akan berubah menjadi Th0, dan selanjutnya menjadi sel efektor Th1 dan Th2
- **sel T CD4 (Th1 dan Th2):** Ada didalam kelenjar getah bening. Petanda permukaan yang dimilikinya adalah

CD4, dan disebut T *helper*. Ada dua jenis, Th1 berperan dalam reaksi hipersensitivitas tipe lambat, sedangkan Th2 berperan dalam imunitas humoral karena bisa meningkatkan produksi antibodi oleh sel B

- **sel T CD8 (CTL/Tc):** Terdapat dalam sel-sel tubuh yang memiliki inti. Petanda permukaannya yaitu CD8, yang disebut T *cytotoxic*. Penamaannya mengikuti fungsinya menghancurkan sel yang terinfeksi virus, sel kanker, dan sel yang tidak kompatibel (menimbulkan reaksi pada transplantasi)
- **sel Ts/Tr:** Dikenal juga sebagai Th3, diduga mencegah respon Th1 dengan mengeluarkan sitokin yang menghambat APC. Tidak hanya berperan dalam menekan aktivitas efektif sel T, namun juga sel B.

2.1.1.2.2 Komponen Humoral Imunitas Spesifik

Adalah imunitas yang diperankan oleh sel limfosit B dengan atau tanpa bantuan sel imunokompeten lainnya. Tugas sel B akan dilaksanakan oleh immunoglobulin yang disekresikan oleh sel plasma.^{1,2,3}

Pada sel B ini reseptor antigen merupakan immunoglobulin permukaan.³ Immunoglobulin merupakan glikoprotein, yang setiap individu bisa menghasilkan 10 hingga 100 juta macam. Immunoglobulin ini berbentuk huruf Y, yang terdiri dari dua rantai berat dan dua rantai ringan. Karakteristik region lengan dari huruf Y ini menentukan spesifisitas antibody (sasaran kerja immunoglobulin). Diujung-ujung tiap lengan terdapat *antigen binding fragment* (Fab) yang unik untuk setiap immunoglobulin, karena itu hanya antigen yang benar-benar spesifik yang bisa

diproses untuk tiap immunoglobulin. Sedangkan region ekornya merupakan properti fungsionalnya (cara kerja dalam menghadapi antigen). Region ini identik untuk tiap kelas, maka dari itu sering disebut *constant region* (Fc).^{1,2}

Terdapat lima kelas immunoglobulin (Ig) yaitu IgM, IgG, IgA, IgD, dan IgE. Berikut adalah penjelasan tiap immunoglobulin^{2,3}:

- **IgG:** merupakan Ig dengan berat molekul 150.000, jumlahnya adalah yang terbanyak. 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. Sel makrofag mempunyai reseptor untuk IgG. Bagian konstan IgG mempunyai berbagai macam proses biologik yang dimulai dengan pembentukan kompleks imun hingga pemusnahan antigen
- **IgM:** jumlahnya 10% dari seluruh Ig, merupakan Ig dengan berat molekul terbesar (850.000-1000.000) 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. Gabungan antigen dengan satu molekul IgM cukup untuk memulai reaksi kaskade komplemen

- **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 menetralisasi toksin atau virus dan mencegah kontak antara toksin atau virus dengan alat sasarannya.
- **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.

2.2 Pengaruh Nutrisi terhadap Imunitas

Peran penting nutrisi sebagai regulator sistem imun telah dikenal sejak awal tahun 1800. Dengan semakin berkembangnya pengetahuan dalam sistem imun seluler dan molekular, peran penting nutrisi dalam memodulasi sistem imun semakin jelas dan terbukti.⁹

Baik makronutrisi maupun mikronutrisi dapat mempengaruhi sistem imun. Secara khusus, makronutrisi berperan dalam menjaga fungsi sel-sel fagosit, *cell-mediated immunity*, sistem komplemen, dan produksi imunoglobulin dan sitokin. Makronutrisi dengan peran besar ini salah

satunya protein. Mikronutrisi berperan dalam proses-proses metabolisme tubuh, dalam berbagai reaksi biokimia sehingga mempengaruhi respon imun. Bila terjadi kekurangan nutrisi, seperti konsumsi diet kurang dari 1200 kkal per hari, maupun obesitas, maka dapat terjadi penurunan sistem imun.¹⁰

Nutrien-nutrien seperti vitamin E, selenium, vitamin A, vitamin D, seng, dan asam lemak selain ditemukan berpengaruh dalam proses perkembangan, juga berpengaruh dalam fungsi berbagai sel dalam sistem imun. Banyak regulasi respon imun yang dipengaruhi nutrisi, disebutkan karena efeknya pada transduksi sinyal dan diekspresikannya gen-gen imunoregulatori. Selenium dan vitamin E telah terbukti mempengaruhi patogenisitas virus (seperti coxsackie B3 dan influenza) lewat efek langsung terhadap respon imun tubuh.⁹ Beta karoten, vitamin B₆, vitamin B₁₂, vitamin C, riboflavin, besi juga telah diteliti pengaruhnya terhadap sistem imun. Khusus untuk nutrisi yang bersifat antioksidan, perannya disebutkan untuk memelihara keseimbangan oksidan-antioksidan pada sel imun dan menjaganya dari stres oksidatif dan menjaga fungsinya agar tetap adekuat.¹¹

Seperti yang telah disebutkan diatas, kondisi kekurangan nutrisi dapat menurunkan sistem imun. Kondisi ini terjadi karena kekurangan asupan energi dan makronutrien lain, atau bisa juga karena kekurangan mikronutrien. Tampilan yang paling konsisten pada kondisi ini terlihat dari imunitas seluler, sistem komplemen, fungsi fagosit, produksi sitokin, respon antibodi, dan afinitas antibodi yang semuanya mengalami abnormalitas. Tanpa nutrisi yang adekuat, sistem imun kekurangan komponen-komponen yang dibutuhkan untuk meregenerasi respon imun yang efektif.¹¹

Salah satu kondisi yang memperlihatkan secara jelas efek kekurangan nutrisi terhadap sistem imun adalah keadaan *protein energy malnutrition (PEM)*. Kondisi PEM menyebabkan imunodefisiensi yang menyebabkan peningkatan keparahan infeksi, atrofi timus (tempat

pematangan limfosit T), dan mengecilnya jaringan limfoid perifer, yang akhirnya terjadi gangguan pada respon imun khususnya mekanisme yang dimediasi oleh sel-sel. Malnutrisi, apapun asalnya (protein, mineral, maupun vitamin) secara konsisten menyebabkan perubahan pada kelenjar timus. Organ tersebut mengalami atrofi parah, karena terjadinya apoptosis dan menurunnya proliferasi timosit.¹¹

Karena banyak ditemukannya efek baik nutrisi terhadap sistem imun, dan bukti bahwa asupan nutrisi yang tidak cukup dapat menyebabkan penurunan sistem imun, nutrisi menjadi salah satu strategi dalam usaha meningkatkan sistem imun (imunopotensiasi).

Saat terjadi bencana alam, jalur distribusi makanan seringkali terputus dan menyulitkan pengungsi untuk mendapatkan makanan. Saat ini bentuk pangan darurat yang biasa diberikan pemerintah adalah mie instan dan beras.⁶ Bantuan ini tergolong belum efektif karena tentunya para pengungsi kekurangan akses untuk mengolah pangan ini (akses air, bahan bakar, dan peralatan masak seringkali terbatas), selain itu kecukupan nutrisinya sangat rendah.⁶ Keadaan kelaparan yang terjadi bisa berkepanjangan hingga menimbulkan efek penurunan sistem imun yang telah disebutkan diatas.

Salah satu cara untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan merancang pangan darurat yang dapat memenuhi kebutuhan gizi manusia dalam keadaan darurat dan dapat langsung dikonsumsi.⁶ Adapun karakteristik yang harus dimiliki pangan darurat seperti ini adalah sebagai berikut⁶:

- Aman
- Memiliki warna, aroma, tekstur, dan penampakan yang dapat diterima
- Mudah didistribusikan
- Mudah digunakan
- Nutrisi lengkap

2.3 Imunopotensiasi

Imunopotensiasi adalah usaha memperbaiki fungsi sistem imun dengan menggunakan bahan yang merangsang sistem imun. Bahan atau obat yang merangsang fungsi sistem imun disebut imunostimulan, terdiri dari imunostimulan biologik dan imunostimulan sintetik.³ Berbagai bahan di alam diyakini dapat bersifat sebagai imunostimulan.

2.3.1 Polifenol

Polifenol merupakan antioksidan yang terbanyak dalam makanan. Polifenol bisa didapat dari tanaman seperti gandum, beri, legumen, teh, anggur, minyak zaitun, cokelat, kopi, almond, kacang tanah, dan palawija. Polifenol memiliki gugus hidroksil yang mampu berikatan dengan zat radikal bebas sehingga dikenal sebagai antioksidan.¹³ Sifat antioksidan yang dimilikinya sangat berguna untuk sistem imun tubuh. Keseimbangan antara prooksidan-antioksidan dipercaya sebagai determinan penting dalam fungsi sistem imun karena jumlah asam lemak rantai panjang yang tidak jenuh (polyunsaturated fatty acid, PUFA) yang ada pada membran sel-sel imun, dan hal ini membuatnya sangat sensitif terhadap stress oksidatif.¹²

Stres 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. Oksidatif stress selain menjadi penyebab penurunan sistem imun juga berperan dalam kondisi alergi, aterosklerosis, hingga kanker.¹²

Polifenol sebagai antioksidan yang ada pada makanan bisa mempengaruhi banyak aspek, baik sistem imun natural maupun spesifik dengan mempertahankan keseimbangan oksidan-antioksidan.¹² Polifenol dipercaya memiliki khasiat imunostimulasi karena dapat menaikkan aktifitas makrofag, sel blast dan limfosit T

sitotoksik.³ Fungsi makrofag yang dipengaruhi termasuk dalam hal produksi sitokin, karena polifenol bisa memodulasi enzim siklooksigenase dan enzim nitric oksida sintase sehingga produksi oksigen bebas menurun. Ada juga yang menyebutkan bahwa efek antioksidan polifenol dijalankan dengan menghambat sistem komplemen, karena sistem ini juga menggunakan prinsip oksidasi dalam mengeliminasi mikroba yang masuk.¹² Selain itu, polifenol juga menghambat produksi oksigen reaktif dari limfosit dan granulosit. Fraksi polifenol juga diketahui efektif menghambat proliferasi sel mononukleus di darah tepi, produksi Ig, dan produksi IL-2.¹³

Namun disisi lain, ditemukan bahwa polifenol dapat bersifat sebagai pro-oksidan dalam beberapa situasi, dan hal ini menjelaskan adanya inkonsistensi pada beberapa penelitian. Studi klinis dan laboratorik yang lebih jauh masih dibutuhkan untuk mengklarifikasi fungsi polifenol dalam sistem imun.¹²

2.3.2 *Phyllanthus niruri*

Phyllanthus niruri, atau yang dalam bahasa Indonesia dikenal sebagai tanaman meniran, merupakan tanaman yang terdistribusi didaerah tropis. Dipercaya memiliki efek imunostimulasi, antidiabetik, antinosiseptif, antioksidan, antiseptic, antiviral, kontraseptif, diuretic, dan hipotensif.¹⁷

Ekstrak *Phyllanthus niruri* telah dipasarkan di Indonesia, baik dalam kemasan sirup maupun tablet dengan dosis 25 mg ekstrak tiap satu sendok takar (5ml) sirup, sedangkan satu kapsulnya mengandung 50 mg ekstraknya. Pemrosesan bahan dasarnya mengikuti standar c-GMP (*Current-Good Manufacturing Practices*) dan CPOB (Cara Pembuatan Obat yang Baik) sesuai standar industri farmasi.¹⁵ Ekstrak *Phyllanthus* ini merupakan obat tradisional, kandungan kimianya berupa flavonoid yang terdiri dari quercetrin, isoquercetrin, astagralin, rutin, kaempferol-4-rhamnopyranoside, erydictyol-7-rhamnopyranoside, fesitin-4-o-glucoside dan nirurin;

Lignan yang terdiri dari phyllanthin, hypphyllanthin dan triterpene; dan Alkaloid yang diberi nama entnorcecurinin.¹⁶

Disebutkan bahwa ekstraknya dapat meningkatkan fungsi dan aktivitas tidak hanya sistem imun natural namun juga sistem imun spesifik. Efek terhadap respon imun natural berupa peningkatan fagositosis dan kemotaksis makrofag, kemotaksis netrofil, sitotoksitas sel NK, serta aktivitas hemolisis komplemen. Terhadap imunitas spesifik dapat meningkatkan aktivitas limfosit T, limfosit B, serta meningkatkan produksi IgM dan IgG.¹⁴ Disebutkan juga bahwa *Phyllanthus niruri* tidak mempengaruhi aktivitas dan fungsi sel-sel monosit dalam mensekresi TNF- α , tidak mempengaruhi aktivitas sitotoksitas dari subpopulasi limfosit T(CD8), menurunkan aktivitas sekresi IL2 oleh subset Th1.¹⁶

2.4 Produk Pangan Padat Gizi BPPT

Bahan-bahan yang terkandung dalam produk pangan padat gizi mengandung polifenol buatan BPPT adalah sebagai berikut:

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

Sedangkan produk pangan padat gizi tanpa polifenol memiliki kandungan yang sama dengan diatas, kecuali kandungan polifenol. Polifenol pada pangan bersumber dari buah pomegranate.

2.5 Protokol Uji Efektivitas

2.5.1 Metode

Uji efektivitas dilakukan dengan menerapkan uji eksperimental terhadap hewan coba. Selain menguji bahan utama, juga dilakukan uji

terhadap bahan lain. Dengan begitu akan dapat dibandingkan efek pengonsumsiannya ketiganya untuk memperoleh bukti efektivitas. Hasil penelitian eksperimental yang valid menghasilkan informasi mengenai efek yang diharapkan serta efek yang tidak diharapkan.¹⁹

2.5.2 Prinsip Metode Tes

Substansi yang diujikan diberikan secara oral dalam periode tertentu, kemudian dilakukan observasi pada beberapa waktu untuk mengetahui efek yang terjadi di tiap periode. Observasi dilakukan dengan mengambil sejumlah hewan coba untuk dibunuh, dan darahnya diambil untuk dilakukan pemeriksaan yang dibutuhkan. Adapun pemeriksaan yang dilakukan adalah pemeriksaan jumlah leukosit, jenis leukosit, serta pemeriksaan beberapa komponen darah lainnya seperti jumlah eritrosit, leukosit, hemoglobin, trombosit, hematokrit, MCV, MCH, MCHC.^{20,21}

2.5.3 Deskripsi Prosedur Tes

2.5.3.1 Persiapan

Hewan coba dewasa yang sehat diadaptasikan dengan kondisi laboratorium selama lima hari sebelum dilakukan pengelompokan hewan untuk tiap kelompok perlakuan secara randomisasi.^{20,21} Selanjutnya dalam satu minggu hewan coba dibiasakan dalam kondisi lapar, yaitu pembatasan konsumsi pangan hingga setengah dari jumlah normalnya.

2.5.3.2 Hewan Percobaan

Hewan coba yang akan digunakan dalam penelitian kali ini adalah mencit, yang tergolong sebagai rodensia. Rodensia dipilih karena merupakan mamalia yang fisiologinya hampir identik dengan manusia (diluar perbedaan ukuran dan anatomi). Pemilihan mencit dilakukan karena cukup sensitive terhadap pemberian suatu substansi.^{20,21}

Jenis mencit yang digunakan adalah mencit Balb/c. Jenis ini banyak digunakan untuk berbagai penelitian, seperti imunologi, kardiovaskular, produksi antibodi monoclonal, toksikologi, farmakologi, penuaan, teratologi, maupun bidang-bidang 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.^{22,23}

Mencit yang digunakan untuk penelitian biasanya memiliki berat badan ± 20 gram. Dalam tabel 2.1 berikut ditunjukkan parameter normal dari berat badan, hematologi dan biokimia mencit usia 7-9 minggu.²²

Tabel 2.1. Parameter Berat Badan, Hematologi, dan Biokimia Mencit Balb/C²²

BALB/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 ⁶ /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 ⁶ /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 ^a	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	37,11	116,70	44,40
Sodium	mmol/l	161,25	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

a) = 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 Hsd:BalbC Global 2018S

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

www.aceanimals.com/BalbC.htm

2.5.3.3 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.¹⁹

Mengingat keterbatasan biaya dan norma etik maka penelitian eksperimental yang dilakukan menggunakan salah satu jenis kelamin saja.

2.5.3.4 Kondisi Kandang

Kondisi tempat perawatan mencit juga harus disesuaikan. Suhu ruangan dipertahankan 18-26 °C, dengan kelembaban relatif sebesar 40-70%.^{24,25,26} Pemberian makan digunakan diet laboratorium konvensional dengan air minum, air minum diberikan secara *ad libitum*. Satu kandang dihuni satu ekor mencit agar semua mencit mendapatkan porsi pakan yang sama.^{20,21} Keterangan lebih lengkap mengenai ukuran kandang yang disesuaikan dengan berat badan mencit bisa dilihat dalam tabel 2.2 berikut:

Tabel 2.2 Kisaran Ukuran Kandang Untuk Hewan Coba²⁴

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

2.5.4 Prosedur

2.5.4.1 Pengukuran Dosis

1. Volume Dosis²⁷

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 Percobaan²⁷

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)

2.5.4.2 Pemeriksaan Klinis

Dilakukan minimal satu kali sehari. Berat badan setiap hewan diukur sebelum pemberian bahan uji, serta saat akan dikorbankan. Perubahan berat badan harus dikalkulasi dan dicatat saat hewan mampu bertahan hidup.^{20,21,27}

2.5.4.3 Pemeriksaan Hematologi

Darah mencit dibutuhkan untuk dilakukan pemeriksaan hematologi, oleh karena itu jumlah darah yang didapatkan harus mencukupi. Maka cara yang dipilih adalah dengan dekapitasi.²⁸ Dengan dekapitasi maka akan didapatkan jumlah darah yang banyak. Sebelum didekapitasi mencit akan dianestesi.²⁹ Teknik anestesi yang disarankan untuk hewan berukuran kecil seperti mencit adalah dengan memasukkan mencit ke tabung tertutup, dan diberikan kapas yang sudah dibasahi dengan eter, agen anestesi yang mudah menguap. Eter bekerja dengan menekan sistem saraf pusat tanpa menimbulkan efek samping pada sistem tubuh lainnya. Keuntungan menggunakan eter yaitu selain sangat efektif, juga terjangkau, aman dan stabil dengan peralatan yang terbatas. Namun kerugiannya adalah sifatnya yang mudah terbakar dan meledak.³⁰

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 anastesi ini yang tergolong murah, aman, dan stabil sehingga dapat digunakan dengan peralatan yang terbatas. Kerugiannya, agen anastesi ini mudah terbakar dan meledak.³⁶

Pemeriksaan hematologi yang dilakukan, meliputi penghitungan jumlah dan jenis sel darah putih³¹⁻³⁴. Leukosit 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.³⁵ Produksi sel darah ini dapat bervariasi dan dipengaruhi kebutuhan tubuh. Produksi leukosit dapat melambat atau bahkan terhenti akibat terpajan zat toksik atau terpajan radiasi, sebaliknya produksinya akan bertambah ketika diperlukan untuk melawan agen-agen asing yang masuk ke dalam tubuh.³⁶

Hitung jenis leukosit merupakan teknik untuk mengetahui persentase tiap jenis leukosit dalam sediaan darah tepi. Adapun jenis-jenis leukosit yang dibedakan, antara lain:³⁶

a. Neutrofil (segmen)

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

b. Neutrofil (batang)

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

c. Eosinofil

Sel jenis ini berperan dalam respon terhadap alergi atau infeksi parasit. Saat berikatan dengan antigen yang tepat, maka bisa menginduksi terlepasnya histamine.

d. Basofil

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

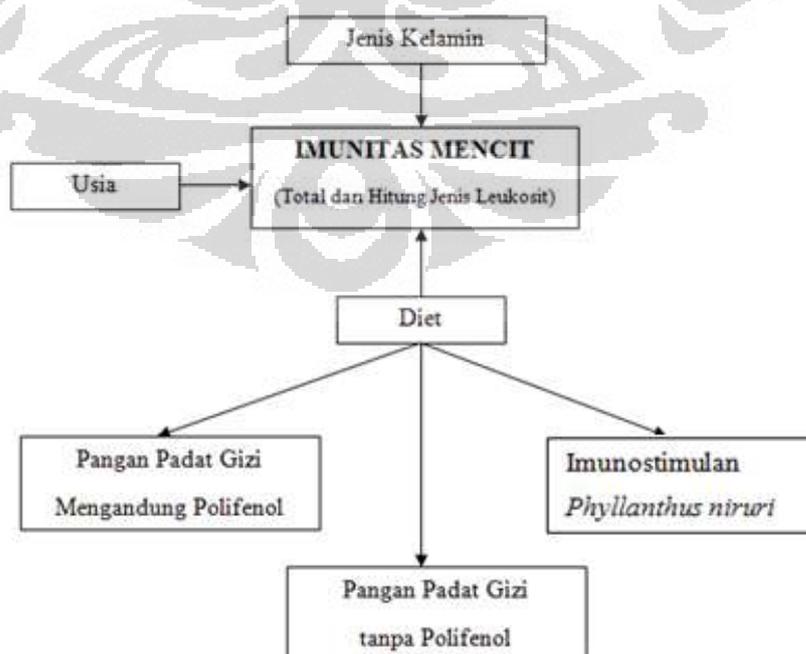
e. Limfosit

Sel limfosit berperan baik terhadap respon cepat maupun respon lambat adanya infeksi atau inflamasi. Seperti yang telah disebutkan diatas, limfosit merupakan komponen dari sistem imun spesifik.¹

f. Monosit

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

2.6 Kerangka Konsep



BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental design*, dengan menggunakan hewan coba mencit. Dalam desain eksperimental hewan coba akan diberikan perlakuan, kemudian diobservasi di akhir periode penelitian untuk melihat apakah didapatkan hasil yang diharapkan.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian bertempat di *Animal House*, Laboratorium Departemen Farmakologi FKUI, Ruang Praktikum Biologi FKUI, Ruang Departemen Histologi FKUI, Laboratorium Ragunan dan Lembaga Eijkman. Dilaksanakan dari bulan Februari 2009 hingga bulan Juli 2010

3.3 Sampel Penelitian

3.3.1 Jenis dan Besar Sampel

Hewan coba yang digunakan sebagai sampel penelitian ini adalah mencit strain BALB-C dengan jenis kelamin betina. Sampel diatur dalam usia yang sama yaitu usia dewasa (sekitar 20 minggu), serta dalam berat badan yang relatif sama yaitu sekitar 18 gram. Pemilihan sampel untuk membentuk masing-masing kelompok dilakukan secara acak. Adapun besar sampel hewan coba mencit diperoleh dengan menggunakan rumus Federer 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 dengan menggunakan produk pangan padat gizi mengandung polifenol, produk pangan padat gizi tanpa polifenol, imunostimulan *Phyllanthus niruri*, serta pangan biasa).

n = jumlah mencit untuk setiap kelompok perlakuan.

3.3.2 Pengelompokan Sampel

Sampel penelitian dipisahkan menjadi tiga kelompok, yang masing-masing terdiri dari enam ekor mencit. Pemilihan mencit untuk menjadi anggota kelompok tertentu dibagi secara random. Ketiga kelompok itu adalah:

- Kelompok Lapar yang diberi Produk Pangan Padat Gizi mengandung Polifenol
- Kelompok Lapar yang diberi Produk Pangan Padat Gizi tanpa Polifenol
- Kelompok Lapar yang diberi Imunostimulan *Phyllanthus niruri*

Untuk melihat perubahan yang terjadi pada setiap kelompok setelah empat minggu perlakuan, maka diperlukan data awal kondisi mencit sebelum perlakuan dimulai. Oleh karena itu diambil juga enam ekor mencit untuk menjadi satu kelompok, yang dikorbankan setelah satu minggu diatur dalam kondisi lapar. Data yang diperoleh dari kelompok ini menjadi data kondisi awal sehingga bisa didapatkan perubahan data setelah perlakuan selama empat minggu.

3.3.3 Pengelolaan Kandang Hewan

Kandang hewan dikelola dengan memperhatikan aspek-aspek yang menjaga kelangsungan hidup hewan. Suhu yang digunakan dalam ruangan perawatan diatur menjadi 18-26°C. Dengan menggunakan cahaya buatan, tempat perawatan diatur menjadi sekitar 12 jam terang

dan gelap. Pemberian makanan disesuaikan dengan perlakuan, sedangkan untuk air minum diberikan secara *ad libitum*.

3.4 Cara Kerja

Sebanyak 24 mencit *strain* BALB-C yang telah memenuhi karakteristik sampel yang disyaratkan mula-mula diaklimatisasi selama dua minggu. Aklimatisasi adalah suatu proses membiasakan hewan terhadap kondisi ruang perawatan, sehingga seluruh mencit tidak dipengaruhi keadaan stress apapun saat menerima perlakuan. Kemudian selama satu minggu seluruh mencit dibuat dalam kondisi lapar, yaitu diberikan makanan (pangan khusus mencit, pangan BR2) hanya setengah dari jumlah porsi normalnya yaitu 3 gram/ ekor/ hari. Waktu pemberian adalah pada pukul 09.00 dan pukul 15.00 WIB. Air minum diberikan tidak terbatas. Setelah satu minggu maka enam mencit diambil secara acak dan dikorbankan untuk mendapatkan data kondisi awal mencit sebelum diberikan perlakuan.

Mencit yang tersisa dibagi ke dalam tiga kelompok, dan mendapat perlakuan yang berbeda untuk setiap kelompok. Kelompok pertama diberi pangan padat gizi mengandung polifenol menggunakan sonde setiap pukul 09.00 sebanyak 1 gram. Kelompok kedua diberi perlakuan dengan cara, waktu dan dosis yang sama dengan kelompok pertama, hanya pangan yang diberikan adalah pangan padat gizi tanpa polifenol. Sedangkan kelompok ketiga diberi imunostimulan *Phyllanthus niruri*, juga dengan menggunakan sonde pada pukul 09.00. Selain mendapatkan perlakuan khusus masing-masing, semua kelompok tetap diberikan pangan biasa BR2 dengan jumlah setengah porsi normalnya pada pukul 11.00 dan pukul 15.00 untuk tetap mendapatkan kondisi lapar. Setelah empat minggu, maka semua mencit akan dikorbankan dengan dekapitasi untuk mendapatkan data hasil penelitian.

Pada manusia, jumlah pangan padat gizi mengandung polifenol buatan BPPT sebagai pangan tambahan yang dianjurkan setiap harinya sebesar 400 gr. Bila dikonversikan pada hewan coba, dosis yang digunakan per sonde adalah:

$$K \times 400\text{gr/hari} = 1,04 \text{ gram/ hari} \approx 1 \text{ gram/hari}$$

K= koefisien mencit 0,0026

3.5 Identifikasi Variabel

3.5.1 Variabel bebas: Jenis-jenis produk pangan yang diberikan

3.5.2 Variabel terikat: Jumlah dan jenis leukosit

3.6 Pengambilan Data

Data yang dibutuhkan dalam penelitian kali ini didapat dari darah mencit, maka agar sampel darah yang diperlukan dapat tercukupi pengambilan darah dilakukan dengan teknik dekapitasi. Sampel darah kemudian diolah untuk mendapatkan jumlah total leukosit serta hasil hitung jenis leukosit. Hitung jumlah leukosit dilakukan dengan menggunakan mesin otomatis di laboratorium Ragunan. Sedangkan hitung jenis leukosit dilakukan dengan membuat sediaan apus darah, kemudian dibaca persentase jenis leukosit dalam 100 leukosit pertama yang ditemukan dibawah mikroskop.

3.7 Manajemen Data dan Analisis

3.7.1 Data yang didapatkan dari penelitian disusun dan dikelompokkan sesuai perlakuan

3.7.2 Data diolah menggunakan SPSS for Windows versi 11.5

3.7.3 Karakteristik data seluruh kelompok dilihat dengan statistik deskriptif

3.7.4 Uji hipotesis yang digunakan adalah uji *anova*, bila data yang didapatkan terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan varians data homogen ($p > 0,05$)

3.7.5 Bila data tidak terdistribusi normal maka akan dilakukan konversi menjadi logaritma untuk mengubah data agar menjadi terdistribusi normal, untuk kemudian diuji dengan *anova*

3.7.6 Bila data tetap tidak terdistribusi normal setelah dikonversi, ataupun varians data tidak homogen, maka akan diuji dengan uji hipotesis Kruskal-Wallis.

3.8 Definisi Operasional

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

1. **Respon imun** adalah sistem pertahanan tubuh mencit, dan yang menjadi indikatornya dalam penelitian ini adalah respon imun umum yaitu jumlah dan jenis leukosit
2. **Kondisi lapar** adalah kondisi yang diatur pada mencit pada sepanjang penelitian, yaitu dengan diberikan pakan hanya setengah dari porsi normalnya, yaitu 3 gram/ ekor/ hari.
3. **Produk pangan padat gizi mengandung polifenol** adalah produk pangan berbentuk biskuit buatan BPPT yang diberi kepada mencit setelah dihaluskan menggunakan air
4. **Produk pangan padat gizi tanpa polifenol** adalah produk pangan yang juga berbentuk biskuit dan diberi pada mencit setelah dihaluskan, khusus dibuat BPPT untuk penelitian ini agar mendapatkan bukti efektivitas polifenol maupun produk pangan padat gizi itu sendiri
5. **Imunostimulan *Phyllanthus niruri*** adalah zat yang telah terbukti dapat meningkatkan sistem imun dan telah dipasarkan di Indonesia
6. **Perubahan jumlah leukosit** adalah data jumlah leukosit yang penulis dapatkan untuk menunjukkan respon imun, yang merupakan selisih antara jumlah leukosit setelah empat minggu perlakuan dan minggu awal sebelum diberi perlakuan
7. **Perubahan hitung jenis leukosit** adalah data hitung jenis leukosit yang penulis dapatkan untuk menunjukkan respon imun, yang merupakan selisih antara hitung jenis leukosit setelah empat minggu perlakuan dan minggu awal sebelum diberi perlakuan

3.9 Masalah Etika

Dalam penelitian ini, peneliti menggunakan jumlah hewan coba yang sesuai dengan perhitungan sebenarnya, dan hewan coba dikorbankan dengan dekapitasi setelah anestesi total sehingga tidak menderita.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, data yang diambil untuk melihat efektivitas produk pangan padat gizi mengandung polifenol terhadap respon imun mencit adalah dengan menggunakan indikator jumlah leukosit dan hasil hitung jenisnya. Sebab seperti yang telah disebutkan dalam tinjauan pustaka, leukosit adalah salah satu komponen respon imun, dengan kemampuannya melakukan fagosit dan mengeliminasi benda asing atau mikroba yang dapat membahayakan tubuh.³ Untuk melihat secara jelas perubahan yang terjadi pada kondisi lapar awal hingga setelah empat minggu diberikan perlakuan, maka data yang digunakan adalah hasil selisih antara data minggu ke empat dan minggu awal.

4.1 Perubahan Jumlah Leukosit

Dari data hasil penelitian atas perubahan jumlah leukosit, dilakukan uji normalitas. Pada uji normalitas, didapatkan bahwa semua data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Kemudian setelah dilakukan uji varians terhadap data, didapatkan varian data homogen ($p > 0,05$). Maka uji anova dapat dilakukan. Adapun persebaran data dan uji hipotesis perubahan jumlah leukosit ditunjukkan dalam tabel berikut.

Tabel 4.1 Persebaran Data Perubahan Jumlah Leukosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)

Kelompok	Rata-rata \pm SD	Anova (p)
Pangan padat gizi + polifenol	1.67 \pm 3.14	
Pangan padat gizi	1.4 \pm 1.51	0.977
<i>Phyllanthus niruri</i>	1.57 \pm 1.41	

Didapatkan bahwa jumlah leukosit mencit yang mengonsumsi produk pangan padat gizi mengandung polifenol mengalami peningkatan. Peningkatan ini bahkan lebih tinggi dibandingkan peningkatan jumlah leukosit mencit yang

mengonsumsi bahan pangan padat gizi tanpa polifenol maupun imunostimulan *Phyllanthus niruri*. Hasil ini sesuai dengan penelitian Srikhun T, Aengwanich W, Kongbuntad W (2010)³⁸ yang menunjukkan bahwa terdapat peningkatan bermakna jumlah leukosit pada ayam broiler yang diberi polifenol dari ekstrak biji Tamarind, adapun stress yang digunakannya adalah stress suhu tinggi.

Namun dari hasil uji Anova didapatkan nilai $p > 0,05$, yang berarti tidak ada perbedaan yang bermakna dalam peningkatan jumlah leukosit antara ketiga kelompok. Terdapat beberapa hal yang dapat menyebabkan hal ini terjadi, salah satunya adalah karena dosis polifenol yang digunakan penelitian ini belum mencukupi untuk menimbulkan efek seperti diatas. Dalam penelitian Arumugam Gnanamania, Munusamy Sudhaa, G. Deepaa et al (2008)³⁹ disebutkan bahwa polifenol dalam konsentrasi tinggi memberikan bermacam efek terhadap hematologi dan biokimia tubuh termasuk dalam hal jumlah leukosit, namun pada konsentrasi rendah polifenol tidak mengakibatkan perubahan signifikan atas hal-hal tersebut. Penelitian kali ini memberikan 1 gram pangan padat gizi mengandung polifenol (dengan polifenol sebanyak 8,32 mg) dalam satu hari. Berarti bila berat badan mencit 18 gram, maka yang diberikan adalah 462mg/kg, yaitu dalam konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan penelitian Srikhun T, Aengwanich W, Kongbuntad W (2010)³⁸ yang memberikan hingga 500mg/kg dalam makanan ayam broiler tersebut.

Dari hasil penelitian yang didapatkan kali ini, dapat disimpulkan bahwa polifenol yang terkandung didalam bahan pangan padat gizi belum menunjukkan efek peningkatan yang berarti terhadap jumlah leukosit, karena hasil yang didapatkan tidak berbeda bermakna saat dibandingkan dengan pangan padat gizi yang tidak mengandung polifenol. Namun pangan padat gizi mengandung polifenol ini juga ternyata menghasilkan peningkatan yang tidak berbeda bermakna dengan pemberian *Phyllanthus niruri*. Berarti dapat disimpulkan pula bahwa pangan ini hampir sama efeknya dengan imunostimulan yang sudah dipasarkan tersebut.

Sebagai tambahan, dari hasil penelitian bahwa tidak ada perbedaan bermakna pada ketiga kelompok juga menunjukkan bahwa produk pangan padat gizi saja (tanpa mengandung polifenol) sesungguhnya sudah cukup baik karena memiliki efek yang tidak berbeda dengan imunostimulan *Phyllanthus niruri*.

4.2 Perubahan Hitung Jenis Leukosit

Untuk pengolahan data hitung jenis leukosit, pertama dilakukan uji normalitas. Bila didapatkan data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan varian data homogen ($p > 0,05$) maka data perubahan hitung jenis tersebut dapat diuji dengan anova. Namun ada pula data yang tidak terdistribusi normal bahkan setelah dikonversi dengan menggunakan logaritma, maka data tersebut akan diuji dengan Kruskal-Wallis. Hasil pengolahan data untuk tiap jenis leukosit (basofil, eosinofil, netrofil batang, netrofil segmen, limfosit dan monosit) dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4.2 Persebaran Data Perubahan Hitung Jenis Leukosit (%jumlah)

Jenis Leukosit	Kelompok	Persebaran Data			Uji Hipotesis
		Median	Min	Max	Kruskal Wallis (p)
Basofil	Pangan padat gizi+polifenol	0	0	0	0.368
	Pangan padat gizi	0	0	0	
	<i>Phyllanthus niruri</i>	0,00	0,00	1	
				Rata-rata ± SD	Anova (p)
Eosinofil	Pangan padat gizi+polifenol	-0.5 ± 1.52			0.062
	Pangan padat gizi	-1 ± 1.26			
	<i>Phyllanthus niruri</i>	1.17 ± 1.72			
				Rata-rata ± SD	Kruskal Wallis (p)

		Rata-rata ± SD			Anova (p)
Netrofil Batang	Pangan padat gizi+polifenol	-0.5 ± 1.52			0.264
	Pangan padat gizi	Median	Min	Max	
		2.00	-2.00	2.00	
	<i>Phyllanthus niruri</i>	1.17 ± 2.23			
Netrofil Segmen	Pangan padat gizi+polifenol	-8 ± 11.14			0.722
	Pangan padat gizi	-14.67 ± 12.27			
	<i>Phyllanthus niruri</i>	-10.67 ± 18.26			
Limfosit	Pangan padat gizi+polifenol	5.5 ± 9.93			0.233
	Pangan padat gizi	19.5 ± 15.22			
	<i>Phyllanthus niruri</i>	9.5 ± 15.85			
Monosit	Pangan padat gizi+polifenol	3.5 ± 4.51			0.103
	Pangan padat gizi	-2.67 ± 4.63			
	<i>Phyllanthus niruri</i>	-1.33 ± 5.43			

Dari analisis perubahan hitung jenis leukosit, tidak ada perbedaan bermakna antara pemberian pangan padat gizi mengandung polifenol dengan pemberian pangan padat gizi tanpa polifenol maupun *Phyllanthus niruri*. Berarti polifenol juga belum menunjukkan efeknya terhadap jenis sel darah putih, karena memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan pangan yang sama namun tanpa polifenol. Hal ini sesuai dengan penelitian Nasriati F (2007)⁴⁰ yang melakukan penelitian terhadap pengaruh polifenol dari teh hijau pada hitung jenis leukosit tikus yang diberi kloramfenikol. Pada penelitian tersebut, tidak terdapat perbedaan hitung jenis leukosit antara tikus yang diberi polifenol dengan tikus yang tidak mendapatkannya.

Selain pembahasan umum hasil pengolahan data hitung jenis leukosit diatas, maka juga dilakukan pembahasan khusus untuk jenis leukosit netrofil segmen dan limfosit. Dua jenis leukosit ini dipilih karena merupakan bagian dari leukosit dengan persentase terbanyak, serta perannya paling luas dalam pertahanan tubuh. Untuk lebih

menunjukkan hasil, maka dilakukan penghitungan terhadap nilai absolut netrofil segmen dan limfosit. Persebaran datanya diolah dengan menggunakan anova karena terdistribusi normal dan variannya homogen. Hasilnya ditunjukkan dalam tabel berikut.

Tabel 4.3 Persebaran Data Perubahan Jumlah Netrofil Segmen dan Limfosit

Jenis Leukosit	Kelompok	Persebaran Data	Uji Hipotesis
		Rata-rata \pm SD	Anova (p)
Netrofil Segmen	Pangan padat gizi+polifenol	239.33 \pm 525.64	0.593
	Pangan padat gizi	-6.83 \pm 162.89	
	<i>Phyllanthus niruri</i>	191.5 \pm 513.44	
Limfosit	Pangan padat gizi+polifenol	58.5 \pm 105.74	0.196
	Pangan padat gizi	277 \pm 241.25	
	<i>Phyllanthus niruri</i>	127.83 \pm 232.25	

Dari hasil diatas terlihat bahwa jumlah netrofil segmen mencit yang diberi produk pangan padat gizi mengandung polifenol mengalami peningkatan. Bahkan peningkatan ini cukup jauh melampaui produk pangan padat gizi tanpa polifenol serta imunostimulan *Phyllanthus niruri*. Hal ini sesuai dengan penelitian Chen YH, Wang DX, Liu P et al (2005)⁴¹ yang menyebutkan bahwa kandungan polifenol dari tanaman *Spatholobus suberectus dunn* (SSD) dapat meningkatkan GM-CSF dan IL-6, yang berpengaruh pada peningkatan netrofil mencit yang yang mengalami radiasi. Namun pada penelitian ini, peningkatan yang ada tidak berbeda bermakna dibandingkan dua kelompok lain ($p > 0,05$).

Sedangkan mengenai jumlah limfosit, pada pemberian pangan padat gizi mengandung polifenol juga menghasilkan peningkatan. Hal ini sesuai dengan penelitian Aengwanich W, Suttajt M, dan Narkkong NA (2009)⁴² yang juga

menunjukkan peningkatan limfosit pada pemberian polifenol (diekstraksi dari Tamarind) pada ayam broiler yang terekspos suhu lingkungan tinggi, dibandingkan kelompok ayam yang tidak memperoleh polifenol. Namun ternyata peningkatan yang dihasilkan oleh pemberian pangan padat gizi tanpa polifenol masih lebih baik. Hal ini membuat efek polifenol terhadap jumlah limfosit tidak terlihat jelas. Kemungkinan kondisi ini terkait dengan keterbatasan penelitian yang belum bisa menjaga kondisi *pathogen-free* pada tempat perawatan mencit dengan sempurna, sehingga agen-agen kontaminan masih dapat menyebabkan ketidakseimbangan antar kelompok perlakuan. Kesamaan kondisi antara ketiga kelompok memang menjadi kunci kesahihan hasil data perbandingan. Walaupun begitu, dari hasil uji hipotesis didapatkan bahwa peningkatan jumlah limfosit yang terjadi pada tiga kelompok tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$).

Sekali lagi, terlihat bahwa polifenol belum menunjukkan efek yang khusus terhadap peningkatan jenis leukosit (dalam hal ini diwakili netrofil segmen dan limfosit), karena hasil yang didapatkan tidak berbeda bermakna dengan penggunaan pangan yang sama namun tanpa polifenol. Namun karena juga tidak didapatkan perbedaan yang bermakna dengan *Phyllanthus niruri*, maka dapat disimpulkan bahwa peningkatan jenis leukosit yang dihasilkan pangan ini sama dengan imunostimulan tersebut.

Kemudian sebagai tambahan, juga bisa disimpulkan bahwa produk pangan padat gizi keluaran BPPT ini walaupun tanpa mengandung polifenol sudah bisa dikatakan baik dalam hal peningkatan hitung jenis leukosit karena efeknya sama dengan imunostimulan yang telah lama ditemukan, *Phyllanthus niruri*.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

- 6.1.1 Peningkatan jumlah leukosit mencit yang diberi produk pangan padat gizi mengandung polifenol sama dengan peningkatan jumlah leukosit hewan coba yang diberi pangan padat gizi tanpa polifenol serta imunostimulan *Phyllanthus niruri*.
- 6.1.2 Peningkatan hitung jenis leukosit mencit yang diberi produk pangan padat gizi mengandung polifenol sama dengan peningkatan jumlah leukosit hewan coba yang diberi pangan padat gizi tanpa polifenol serta imunostimulan *Phyllanthus niruri*.

6.2 Saran

- 6.2.1 Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai efek polifenol sebagai zat aktif yang meningkatkan respon imun.
- 6.2.2 Penyempurnaan kondisi lingkungan untuk penelitian selanjutnya, karena kondisi yang semakin *pathogen-free*, bersih, serta tidak berdekatan dengan kontaminan akan dapat memberikan hasil penelitian yang semakin baik.
- 6.2.3 Indikator respon imun yang digunakan semakin dilengkapi, misalnya dengan mengukur fungsi leukosit (misalnya fungsi kemotaksis dan fagositosis) maupun mediator inflamasi.
- 6.2.4 Penelitian lanjutan sebaiknya dilakukan dalam jangka waktu yang lebih lama, jumlah hewan coba yang diperbanyak, dosis polifenol yang lebih besar, serta dilakukan dalam kondisi stress lain agar mendapatkan bukti efektivitas yang semakin terpercaya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abbas AK, Lichtman AH. Basic Immunology; Function and Disorders of the Immune System. 3rd edition. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2009. p. 1-13.
2. Sherwood L. Human physiology: from cells to system. 6th edition. Belmont: Thomson Brooks/Cole; 2007. p. 409-47.
3. Matondang CS. Respons Imun. Dalam: Akib AA, Munasir Z, Kurniati N, editor. Buku ajar alergi imunologi. Edisi II. Jakarta: IDAI; 2008. p. 9-15.
4. Harsono A. Imunomodulasi. Dalam: Akib AA, Munasir Z, Kurniati N, editor. Buku ajar alergi imunologi. Edisi II. Jakarta: IDAI; 2008. p. 176-185.
5. Nafrialdi. Imunomodulator, Imunosupresan, dan Imunostimulan. Dalam: Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, editor. Farmakologi dan Terapi. Edisi 5. Jakarta: Gaya Baru; 2007. p. 766.
6. Ferawati, Nasrullah F, Utami M. Inovasi Produk Pangan Darurat: Solusi Permasalahan Pangan Bangsa. IPB [artikel di internet]. 2009 (diakses tanggal 22 Mei 2011). Diunduh dari: <http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/20006/Cover%20PKM-GT-09-IPB-Ferawati-Inovasi%20Produk%20Pangan.pdf?sequence=2>
7. Baratawidjaja KG. Imunomodulasi. Dalam: Imunologi dasar. Edisi V. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2002. p. 372-390.
8. Subowo. Immunobiologi. Edisi II. Jakarta: Sagung Seto; 2009.
9. Meydani SN, Erickson KL. Nutrients as Regulators of Immune Function: Introduction. The FASEB journal. 2001;15:2555.
10. Chandra RK. Nutrition and the Immune System: an Introduction. Am J Clin Nutr. 1997;66(2):460-63.
11. Marcos A, Nova E, Montero A. Changes in the Immune System are Conditioned by Nutrition. European Journal of Clinical Nutrition. 2003;57:66-69.
12. Neyestanis TR. Polyphenols and Immunity. Wild-Type food in Health Promotion and Disease Prevention. 2008;3:413-34
13. Vinardell MP, Mitjans M. Immunomodulatory effects of polyphenols. EJEAFChe. 2008;7(8):3356-3362

14. Sanjaya E. Pengaruh Pemberian Ekstrak Phyllanthus Niruri terhadap Status Imun pada Mencit BALB/C yang Diinfeksi Salmonella Typhumurium: Gambaran Morfologi Limfosit dan Produksi Nitric Oxide (NO) Makrofag. [artikel di internet]. 2008(diakses 27 Juli 2011).Diunduh dari <http://eprints.undip.ac.id/24554/1/Galuh.pdf>
15. Anonimus. Pengetahuan produk Stimuno. Dexa Medica [artikel di internet]. 1999 (diakses tanggal 2 Desember 2009). Diunduh dari: <http://www.stimuno.com/index.php?mod=article&id=90>.
16. Anonimus. Pengaruh Phyllanthus niruri L Sebagai Imunomodulator Terhadap Kadar IFN pada Penderita Tuberkulosis. [artikel di internet] . 2007 (diakses tanggal 27 Juli 2011). Diunduh dari <http://www.stimuno.com/index.php?mod=article&id=90>
17. Adjene JO, Nwose EU. Histological Effects of Chronic Administration of Phyllanthus amarus on the Kidney of Adult Wistar Rat. North Am J Med Sci. 2010; 2:193-195.
18. Harun SR, Putra ST, Chair I, Sastoasmoro S. Uji Klinis. Dalam: Sastroasmoro S, Ismael S, editor. Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis. edisi 3. Jakarta: Sagung Seto;2008.p.166-191
19. Harun SR, Putra ST, Chair I, Sastoasmoro S. Uji Klinis. Dalam: Sastroasmoro S, Ismael S, editor. Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis. edisi 3. Jakarta: Sagung Seto;2008.p.166-191
20. OECD. Guideline For Testing of Chemicals. 401 : Acute Oral Toxicity (12 Mei 1981)
21. OECD. Guideline For Testing of Chemicals. 408 : Subchronic Oral Toxicity - Rodent : 90-day Study. (12 Mei 1981)
22. <http://www.aceanimals.com/BalbC.htm>
23. Harlan Laboratorium. Bagg's Albino: BALB/C. Harlan Laboratories, Inc. 2008. Available from: <http://www.harlan.com/download.axd/bbfa4d65a7914e2e8359ff4bf1bbc252.pdf?d=Balbc> (24 April 2010)

24. 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.
25. 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.
26. ILAR (Institute of Laboratory Animal Resources) Committee on Rodents. Laboratory animal management: rodents. ILAR news. 1977;20;L1-15.
27. Derelanko, M.J. Handbook of Toxicology. 2nd edition. New York : CRC Press, 2002.
28. Gay WI. Methods of animal experimentation. Volume I. New York: Academic Press; 1965. p. 174-91.
29. Gay WI. Methods of animal experimentation. Volume I. New York: Academic Press; 1965. p. 50-62.
30. 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.
31. 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.
32. Gandasoebrata, R. Penuntun Laboratorium Klinik. Jakarta : Dian Rakyat; 1989.p.13-15
33. Wirawan, Riadi dan Erwin Silman. Pemeriksaan Laboratorium : Hematologi Sederhana. Edisi 2. Jakarta : Balai Penerbitan FKUI; 2000.p.15-23.
34. Wirawan, Riadi dan Erwin Silman. Pemeriksaan Laboratorium : Hematologi Sederhana. Edisi 2. Jakarta : Balai Penerbitan FKUI; 2000.p.31-36.
35. Hoffbrand AV, Mehta AB. At a Glance: Hematologi. edisi ke 2. Jakarta: Erlangga; 2006.p.10-12
36. Sherwood L. Human physiology: from cells to system. Edisi VI. Belmont: Thomson Brooks/Cole; 2007. p. 392-6.

37. Official US Navy. White Blood Cell Differential Count . NAVMED P-5139. Diakses 10 September 2010. <http://www.brooksidepress.org>
38. 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 in Broilers under Chronic Heat Stress. *International Journal of Poultry Science*. 2010;9(10): 988-995
39. Gnanamani A, Sudha M, Deepa G, et al. Haematological and Biochemical Effects of Polyphenolics in Animal Models. *Chemosphere*. 2008;72:1321-26
40. Nasriati F. Pengaruh Teh Hijau Terhadap Jumlah Dan Hitung Jenis Leukosit Tikus Wistar Yang Diberi Kloramfenikol. Semarang: Universitas Diponegoro; 2007.
41. Chen YH, Wang DX, Liu P, Chen RY, et al. Hematopoetic-supportive effect of (2S, 3R)-ent-catechin on marrow-depressed mice. *Chin Med J*. 2005;118(13):1118-1122.
42. Aengwanich W, Suttajit M, Narkkong NA. Effects of Polyphenols Extracted from Tamarind (*Tamarindus indica* L.) Seed Coat on Differential White Blood Cell Count in Broilers (*Gallus domesticus*) Exposed to High Environmental Temperature. *International Journal of Poultry Science*. 2009;8(10): 957-962.

Lampiran: Nilai Normalitas

1. Tabel Nilai Uji Normalitas (nilai p) Perubahan Jumlah Leukosit

Kelompok	Nilai Normalitas (Shapiro Wilk)
Pangan padat gizi+polifenol	0.081
Pangan padat gizi	0.291
<i>Phyllanthus niruri</i>	0.069

2. Tabel Nilai Uji Normalitas (nilai p) Perubahan Hitung Jenis Eosinofil

Kelompok	Nilai Normalitas (Shapiro Wilk)
Pangan padat gizi+polifenol	0.389
Pangan padat gizi	0.110
<i>Phyllanthus niruri</i>	0.223

3. Tabel Nilai Uji Normalitas (nilai p) Perubahan Hitung Jenis Netrofil Batang

Kelompok	Nilai Normalitas (Shapiro Wilk)
Pangan padat gizi+polifenol	0.389
Pangan padat gizi	0.005
<i>Phyllanthus niruri</i>	0.801

4. Tabel Nilai Uji Normalitas (nilai p) Perubahan Hitung Jenis Netrofil Segmen

Kelompok	Nilai Normalitas (Shapiro Wilk)
Pangan padat gizi+polifenol	0.280
Pangan padat gizi	0.273
<i>Phyllanthus niruri</i>	0.850

Lampiran: Nilai Normalitas (lanjutan)

5. Tabel Nilai Uji Normalitas (nilai p) Perubahan Hitung Jenis Limfosit

Kelompok	Nilai Normalitas (Shapiro Wilk)
Pangan padat gizi+polifenol	0.170
Pangan padat gizi	0.075
<i>Phyllanthus niruri</i>	0.0728

6. Tabel Nilai Uji Normalitas (nilai p) Perubahan Hitung Jenis Monosit

Kelompok	Nilai Normalitas (Shapiro Wilk)
Pangan padat gizi+polifenol	0.174
Pangan padat gizi	0.299
<i>Phyllanthus niruri</i>	0.691

7. Tabel nilai Uji Normalitas (nilai p) Perubahan Jumlah Netrofil Segmen

Kelompok	Nilai Normalitas (Shapiro Wilk)
Pangan padat gizi+polifenol	0.578
Pangan padat gizi	0.525
<i>Phyllanthus niruri</i>	0.538

8. Tabel nilai Uji Normalitas (nilai p) Perubahan Jumlah Limfosit

Kelompok	Nilai Normalitas (Shapiro Wilk)
Pangan padat gizi+polifenol	0.713
Pangan padat gizi	0.114
<i>Phyllanthus niruri</i>	0.475