

**EFEK PEMBERIAN MADU PALIASA TERHADAP
AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G PADA MENCIT
(*Mus musculus*)**

**MARDIA
N111 07 016**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

**EFEK PEMBERIAN MADU PALIASA TERHADAP AKTIVITAS
IMUNOGLOBULIN G PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MARDIA

N111 07 016

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

**EFEK PEMBERIAN MADU PALIASA TERHADAP AKTIVITAS
IMUNOGLOBULIN G PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

MARDIA
NIII 07 016

Disetujui oleh :

UNIVERSITAS HASANUDDIN

Pembimbing Utama

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt
NIP. 19560114 198601 2 001

Pembimbing Pertama

Pembimbing Kedua

Dra. Aliyah, MS., Apt
NIP. 19570704 198603 2 001

Prof. Dr. rer-nat Hj. Marianti A. Manggau, Apt
NIP. 19670319 199203 2 002

Pada tanggal 18 Juli 2013

PENGESAHAN
EFEK PEMBERIAN MADU PALIASA TERHADAP AKTIVITAS
IMUNOGLOBULIN G PADA MENCIT (*Mus musculus*)

MARDIA
N111 07 016

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 18 Juli 2013

Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua Penguji : Prof. Dr. H. Tadjuddin Naid, M.Sc., Apt. (.....)
2. Sekertaris Penguji : Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt. (.....)
3. Anggota (Ex Officio) : Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt. (.....)
4. Anggota (Ex Officio) : Dra. Aliyah, MS., Apt. (.....)
5. Anggota (Ex Officio) : Prof. Dr. rer-nat Hj. Marianti A. Manggau, Apt. (.....)
6. Anggota : Dra. Hj. Nursiah Hasyim, CES., Apt (.....)

Mengetahui :
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian efek pemberian madu paliasa terhadap aktivitas imunoglobulin G pada mencit (*Mus musculus*) dengan menggunakan metode hemaglutinasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan madu paliasa sebagai imunomodulator khususnya terhadap aktivitas imunoglobulin G pada mencit (*Mus musculus*). Sebanyak 15 ekor mencit jantan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri atas 3 ekor mencit. Kelompok I diberi air suling, kelompok II diberi 10 % larutan madu A (tanpa paliasa), kelompok III, IV, V diberi 10 % larutan madu paliasa yaitu madu yang dihasilkan oleh lebah *Apis mellifera* yang diberi pakan tambahan berupa campuran air dan infus daun paliasa dengan berbagai macam konsentrasi yaitu konsentrasi 20 %, 40 %, dan 60 % dan sirup dengan perbandingan 2 : 3 Pemberian dilakukan selama 9 hari secara oral dengan volume pemberian 1ml/30 gram BB mencit. Sebelum diberi perlakuan, mencit diimunisasi dengan sel darah merah domba (SDMD) 2% v/v secara intraperitoneal sebanyak 1ml/30 gram bobot badan mencit. Pengamatan aktivitas imunoglobulin G dilakukan pada hari kesepuluh dengan menggunakan metode hemaglutinasi titer antibodi. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa madu paliasa dapat meningkatkan aktivitas imunoglobulin G (IgG) lebih tinggi dari kelompok kontrol, dan ini dibuktikan dengan analisis statistika dengan rancangan acak lengkap (RAL) yang dilanjutkan dengan uji beda jarak nyata Duncan (BJND). Hasil terbaik peningkatan imunoglobulin G adalah MP(B).

ABSTRACT

A research about the effect from paliasa honey for the immunoglobulin G (IgG) activity of mice (*Mus musculus*) by hemagglutination method had been done. The research was aimed to determine the ability of paliasa honey as immunomodulatory activity particularly against immunoglobulin G (IgG) of male mice. The 15 mice was divided into 5 treatment groups, each group consist of 3 mice. The first group as negative control that was only aquadest, group II was given 10% honey solution A (without paliasa), group III, IV, and V was given 10% paliasa honey solution namely honey produced by bees *apis mellifera* were given additional food in the form of infusion leaf paliasa namely concentration 20%, 40%, and 60% and syrup with a ratio of 2 : 3. administrations were orally for 9 days in a dose of 1 ml/30 gram of body weight of mice. Before treatment, each mice was immunized with sheep red blood cells (RBC) 2% intraperitoneally in a dose 1 ml/30 gram body weight. Evaluation of IgG activity was conducted at the day 10th after immunization using haemagglutinating antibody titer (HAT) method. The result of the research showing that paliasa honey can increase immunoglobulin G activities more than negative control, and it was proved with statistic analysis completely randomize design (CRD) continued by Duncan multiple range test (DMRT). The most optimum result immunoglobulin G (IgG) is MP(B).

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini adalah karya nyata sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, Juli 2013

Penyusun

M a r d i a

UCAPAN TERIMA KASIH



Alhamdulillah, puji syukur ke hadirat Allah swt, Yang Maha Mengetahui, pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk dan izin-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan. Sholawat dan salam atas Nabi Allah Muhammad saw.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini, diantaranya keterbatasan pustaka yang memadai. Namun berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada semua pihak, terutama kepada Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt. sebagai pembimbing utama, Dra. Aliyah, MS., Apt. sebagai pembimbing pertama, dan Prof. Dr. rer-nat. Hj. Marianti A. Manggau., Apt. sebagai pembimbing kedua, atas sumbangsih saran, waktu, dan perhatian yang telah beliau berikan kepada penulis sejak dimulainya penelitian hingga selesainya skripsi ini.

Skripsi ini khusus penulis persembahkan kepada keluarga, karena semua ini takkan ada artinya tanpa dukungan, cinta dan kasih sayang yang selalu tercurah dari kedua orang tua tercinta Hamzah dan Zaenab serta saudara & saudariku: Habil, St, dr. Mutmainnah, Safria, S.St, Hasan, Muzakkir, dan Kurnia yang menjadi sumber inspirasi penulis dalam menjalani kehidupan ini.

Juga tak lupa penulis ucapan terima kasih kepada :

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
2. Para wakil Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
3. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
4. Kepada seluruh mahasiswa farmasi angkatan 2007 khususnya diena, ainun, tina, dan kepada wiro dan kris yang telah banyak membantu penulis selama penelitian. Serta semua pihak yang telah turut membantu dalam penyusunan skripsi ini, yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Banyak hal yang membuat karya ini jauh dari kesempurnaan. Karena itu, penulis selalu berharap agar saran yang membangun selalu disampaikan kepada penulis demi terciptanya suatu karya yang lebih bermutu. Permohonan maaf yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada semua pihak yang mungkin pernah dirugikan oleh penulis. Akhirnya semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Amin.

Makassar, 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Uraian Tanaman Paliasa.....	4
II.1.1 Klasifikasi Tanaman Paliasa.....	4
II.1.2 Nama Daerah... ..	4
II.1.3 Morfologi Tanaman	5
II.1.4 Tempat Tumbuh	6
II.1.5 Kandungan Kimia	6
II.1.6 Kegunaan..... ..	6
II.2. Uraian Umum Madu.....	6
II.2.1 Pengertian Madu.. ..	6
II.2.2 Proses Pembentukan Madu.....	7
II.2.3 Penggolongan Madu	8
II.2.4 Kandungan Madu.....	9

II.2.5 Sifat Fisika Kimia Madu.....	11
II.2.6 Kualitas Madu.....	14
II.2.7 Madu Asli dan Madu Palsu.....	15
II.2.8 Khasiat Madu.....	17
II.3 Uraian Sistem Pertahanan Tubuh.....	17
II.3.1 Sistem Imun.....	17
II.3.2 Respon Imun Non Spesifik.....	18
II.3.3 Respon Imun Spesifik.....	20
II.3.4 Hubungan Antara Sistem Imun Spesifik & Non spesifik.	
II.4 Antibodi.....	22
II.4.1 Pembentukan Antibodi.....	22
II.4.2 Immunoglobulin.....	23
II.4.3 Klasifikasi Immunoglobulin.	23
II.4.4 Struktur Immunoglobulin.....	24
II.4.5 Fungsi Immunoglobulin.....	25
II.5 Immunoglobulin G.....	26
II.5.1 Sifat Fisika Kimia	27
II.5.2 Struktur Immunoglobulin G	27
II.5.3 Aktivitas Biologi dan Immunologi.....	27
II.6 Antigen.....	28
II.7 Aglutinasi.....	28
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	30
III.1 Alat dan Bahan.....	32

III.2 Sampel Penelitian.....	32
III.3 Pembuatan Bahan Penelitian.....	32
III.3.1 Pembuatan Phospat Buffered Saline pH 7,2.....	33
III.3.2 Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah Domba 2%....	33
III.4 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji.....	33
III.4.1 Pemilihan Hewan Uji.....	34
III.4.2 Penyiapan Mencit Jantan.....	34
III.5 Pengujian Aktivitas Immunoglobulin G Pada Hewan Uji.....	34
III.5.1 Perlakuan Terhadap Hewan Uji.....	34
III.5.2 Pengambilan Sampel Darah Hewan Uji	34
III.6 Uji Hemaglutinasi.....	35
III.7 Pengumpulan dan Analisis Data.....	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
IV.1 Hasil Penelitian.....	36
IV.2 Pembahasan.....	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
V.1 Kesimpulan	41
V.2 Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja pengaruh pemberian madu paliasa terhadap aktivitas imunoglobulin G pada mencit.....	46
2. Analisis statistik rasio aktivitas IgG setelah pemberian madu paliasa menggunakan rancangan acak lengkap dan uji Duncan.....	47
3. Foto dan gambar penelitian.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi madu.....	10
2. Standar nasional mutu madu Indonesia.....	15
3. Data uji aktivitas imunoglobulin G.....	36
4. Data titer IgG setelah ditransformasi dengan (2 log titer) + 1.....	47
5. Tabel Anava.....	49
6. Uji beda jarak nyata Duncan.....	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman paliasa.....	5
2. Struktur imunoglobulin.....	26
3. Foto data titer IgG pada sumur mikrotitrasi.....	51
4. Foto data titer IgG pada sumur mikrotitrasi	51
5. Foto inkubator.....	52
6. Foto sentrifuge.....	52
7. Foto penginjeksian SDMD.....	52
8. Foto serum darah mencit.....	52

BAB I

PENDAHULUAN

Manusia telah mengenal tumbuhan sebagai obat sejak berabad-abad yang lalu. Meskipun pada waktu sekarang banyak obat-obatan yang dibuat secara sintetik, namun seiring dengan kesadaran manusia untuk kembali ke alam (*back to nature*), obat tradisional kembali diteliti secara lebih mendalam. Dunia kedokteran pun telah mempelajari obat-obat tradisional dan hasilnya mendukung bahwa tanaman obat memiliki kandungan zat-zat yang secara klinis terbukti bermanfaat untuk kesehatan (1).

Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat oleh masyarakat, khususnya masyarakat Sulawesi Selatan adalah paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.). Daun paliasa digunakan dan dipercaya berkhasiat sebagai obat untuk mengobati penyakit liver, hipertensi, diabetes, dan hepatitis dengan cara meminum air rebusannya (2). Daun paliasa mengandung senyawa kimia saponin, kardenolin, bufadienol, antrakinin, terpenoid, dan fenolik (3). Selain itu paliasa juga mengandung senyawa alkaloid dan flavanoid (4).

Isoflavon yang terkandung dalam paliasa, dapat meningkatkan aktivitas dan fungsi beberapa komponen sistem imun, baik yang tergolong dalam imunitas humoral maupun selular. Dengan adanya bahan tersebut di dalam tubuh, akan terjadi peningkatan mekanisme pertahanan tubuh. Sitokin yang berperan dalam hematopoiesis akan merangsang diferensiasi sel progenitor dalam sum-sum tulang menjadi sel-sel yang spesifik dan sangat berperan pada pertahanan terhadap infeksi, reaksi imun, dan inflamasi (5).

Arziana (2008) melaporkan bahwa ekstrak n-heksan daun paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.) pada konsentrasi 0,25% b/v dapat meningkatkan aktivitas imunoglobulin G (Ig G) dibandingkan dengan konsentrasi 0,5% b/v, 0,75% b/v, 1,0% b/v, dan kontrol negatif (6).

Madu adalah cairan kental yang dihasilkan oleh lebah madu dari berbagai sumber nektar yang mengandung enzim diastase aktif (7). Madu mengandung fruktosa, glukosa, senyawa flavanoid dan senyawa antioksidan seperti senyawa fenolik, vitamin C, katalase, dan pinocembrin. Khasiat madu antara lain meningkatkan stamina, mempermudah proses pencernaan, meningkatkan daya tahan tubuh, serta untuk perawatan tubuh dan kecantikan. Penyakit yang dapat disembuhkan dengan madu di antaranya penyakit paru (tuberkulosis), radang usus, tekanan darah rendah dan batu ginjal (8). Selain itu, menurut Erguder, *et al.*(2008), madu bermanfaat dalam pencegahan penyakit hati akibat gangguan saluran empedu (9).

Untuk meningkatkan kandungan gizi dari madu, biasanya lebah penghasil madu diberi pakan tambahan dalam bentuk air gula yang dicampur dengan bahan lain yang mengandung bahan gizi yang diinginkan (10). Zidon (dkk 11) melaporkan bahwa madu dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh pada penderita berbagai jenis kanker. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Waili (dkk 11) menunjukkan bahwa minum madu sebelum tidur akan menurunkan produksi dan pelepasan kortisol, hormon stres yang menyerang sistem kekebalan tubuh. Mengonsumsi madu secara teratur

juga akan meningkatkan sel darah putih dan platelet serta menstabilkan jumlah hemoglobin (11).

Dari uraian di atas, dapat dilihat adanya kesinergisan antara madu dan paliasa, sehingga timbul pemikiran untuk menggunakan madu paliasa dalam penelitian ini. Madu paliasa merupakan madu yang diperoleh dari lebah yang diberi pakan tambahan berupa campuran sirup dan infus daun paliasa. Dengan mengkonsumsi pakan tambahan ini, diharapkan lebah dapat menghasilkan madu yang mengandung selain senyawa madu sendiri juga mengandung senyawa dari daun paliasa, sehingga diharapkan dapat meningkatkan imunitas yang lebih baik, karena adanya efek yang sinergis antara madu dan paliasa.

Permasalahan yang timbul berdasarkan uraian di atas adalah apakah madu paliasa mempengaruhi aktivitas imunoglobulin khususnya imunoglobulin G. Untuk itu telah dilakukan penelitian efek pemberian madu paliasa terhadap aktivitas imunoglobulin G pada mencit (*Mus musculus*).

Maksud dari penelitian ini adalah untuk membuktikan efek madu paliasa terhadap aktivitas imunoglobulin G mencit (*Mus musculus*) dengan hipotesis bahwa madu paliasa dapat mempengaruhi aktivitas imunoglobulin G pada mencit dengan pemberian berbagai variasi konsentrasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan madu paliasa sebagai imunomodulator khususnya terhadap aktivitas imunoglobulin G pada mencit.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman Paliasa

II.1.1 Klasifikasi Tanaman (12)

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Anak kelas	: Sympetalae
Bangsa	: Sterculiales
Suku	: Sterculiaceae
Marga	: Kleinhovia
Jenis	: <i>Kleinhovia hospita</i> Linn.

II.1.2 Nama Daerah (13)

Lampung	: Mangar
Ambon	: Katimahar, kinar
Sunda	: Tangkele, tangkolo
Jawa	: Katimangu
Bugis	: Aju pali
Toraja	: Daun montu
Makassar	: Kayu paliasa
Flores	: Kadangu, laiantuha

II.1.3 Morfologi tanaman (12)

Tanaman paliasa merupakan pohon bersemak memiliki tinggi 5-20 m. daun bertangkai panjang, berbentuk jantung lebar, pada pangkalnya bertulang daun menjari. Bunga dalam malai di ujung, lebar, berambut halus. Daun pelindung oval. Tajuk kelopak 5, bentuk lanset, panjang 6-10 mm, merah dari luar berambut bintang. Bunga berwarna merah muda, dasar bunga diperpanjang menjadi tiang yang tipis yang di pangkalnya dikelilingi oleh tonjolan dasar bunga yang berbentuk cawan. Bakal buah beruang 5, tangkai putik 1. Kepala sari tertancap secara perisai, buah kotak berbentuk buah pir, melembung seperti selaput, bertaju 5. Batang berkayu bulat, keras, dan bercabang-cabang berwarna cokelat sampai cokelat keputihan.



Keterangan :

1. Batang
2. Bunga
3. daun

2

1

3

Gambar 1. Tanaman paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.)

Sumber : <http://en.wikipedia.org>

II.1.5 Tempat Tumbuh (12)

Tanaman paliasa tumbuh secara liar atau ditanam sebagai tanaman hias. Tumbuh pada ketinggian tidak lebih dari 500 meter di atas permukaan laut dan tempat yang lembab.

II.1.4 Kandungan Kimia

Daun paliasa mengandung senyawa kimia saponin, kardenolin, bufadienol, dan antraknon (3). Selain itu, paliasa mengandung senyawa golongan alkaloid dan flavanoid (4).

II.1.5 Kegunaan

Masyarakat di Sulawesi Selatan menggunakan paliasa sebagai obat untuk penyakit kuning dan hepatitis. Daun paliasa digunakan dan dipercaya berkhasiat sebagai obat yang mampu mengobati penyakit liver, hipertensi, diabetes, kolesterol dan hepatitis dengan cara meminum air rebusannya (2). Masyarakat di Ambon menggunakan daunnya yang masih muda untuk mencuci rambut. Sedangkan masyarakat di Bogor menggunakan air rendaman daun paliasa untuk mencuci mata yang kabur terutama pada orang yang lanjut usia (14).

II.2 Uraian Umum Madu

II.2.1 Pengertian Madu

Madu adalah cairan alami yang umumnya mempunyai rasa manis yang dihasilkan oleh lebah madu dari sari bunga tanaman (floral nektar) atau bagian lain tanaman (ekstra floral nektar) atau ekskresi serangga (15). Madu

merupakan produk yang unik dari hewan, yang mengandung persentase karbohidrat yang tinggi, praktis tidak ada protein maupun lemak. Madu memiliki warna kuning pucat sampai coklat kekuningan, rasa dan bau dari madu sangat tergantung oleh jenis nektar yang dikumpulkan dari bunga (16).

II.2.2 Proses Pembentukan Madu

Langkah pertama dalam pembentukan madu dimulai ketika lebah terbang dari satu bunga ke bunga lainnya untuk mengumpulkan nektar yang terdapat dalam bunga. Dengan lidah, lebah menghisap nektar dan menyimpannya di kantung dalam tubuhnya. Setelah lebah mengisi kantungnya dengan nektar, selanjutnya lebah kembali ke sarangnya dan memuntahkan sari ke dalam mulut lebah rumah. Lebah rumah ditugaskan untuk menambahkan enzim dari tubuhnya untuk madu. Enzim menyebabkan air di madu menguap sehingga berubah, dan akhirnya nektar berubah menjadi madu (14). Madu disimpan dalam sel sarang madu dan madu menjadi matang. Lebah madu dibagi menjadi tiga jenis antara lain:

1. Lebah pekerja

Lebah pekerja merupakan lebah betina yang tugasnya untuk menghisap nektar dari bunga, membangun dan melindungi sarang lebah.

2. Ratu lebah

Tugas ratu lebah adalah meletakkan telur yang akan menelurkan generasi berikutnya dari sarang lebah. Biasanya hanya ada satu ratu dalam sebuah sarang lebah.

3. Lebah jantan

Beberapa ratus lebah jantan tinggal di setiap sarang selama musim semi dan musim panas, dan lebah jantan diusir dari sarang pada waktu musim dingin.

Lebah memproduksi madu dengan bahan nektar yang merupakan cairan mengandung gula yang disekresikan oleh kelenjar nektari tanaman. Selain nektar, lebah madu juga menggunakan nambur madu (*honeydew*) sebagai bahan baku madu. Nambur madu merupakan ekskreta serangga yang mengisap cairan *floem* (16).

II.2.3 Penggolongan Madu

Madu dapat dibedakan menjadi beberapa golongan menurut jenis tanaman yang menjadi sumber nektarnya, yaitu:

a) Madu flora

Madu yang dihasilkan dari nektar bunga. Nektar yang berasal dari satu bunga disebut madu monoflora, misalnya madu randu, madu karet, dan madu lengkung. Sedangkan yang berasal dari beraneka ragam bunga disebut madu poliflora, misalnya madu Nusantara, madu Kalimantan dan madu Sumba.

b) Madu ekstra flora

Madu yang dihasilkan dari sumber tanaman yang tidak memiliki bunga atau dari nektar yang terdapat di luar bunga yaitu dari bagian tanaman lain seperti daun, cabang, dan batang.

c) Madu embun

Madu yang dihasilkan dari cairan hasil sekresi serangga yang terdapat di pohon-pohon. Cairan ini dihisap dan dikumpulkan oleh lebah madu di dalam bagian tertentu yang disebut sarang madu. Kemudian diproses menjadi madu. Madu embun banyak mengandung dekstrin, tetapi kekuatan antibakterinya lebih rendah dibandingkan dengan madu biasa (17).

Sedangkan madu berdasarkan proses pengambilannya menurut Sarwono (2001) dapat digolongkan menjadi dua yaitu :

1. Madu Ekstraksi (Extracted Honey)

diperoleh dari sarang yang tidak rusak dengan cara memusingkan atau memutarnya memakai alat ekstarktor.

2. Madu Paksa (Strained Honey)

diperoleh dengan merusak sarang lebah lewat pengepresan, penekanan atau lewat cara lainnya

II.2.4 Kandungan Madu

Madu mengandung air, karbohidrat, protein, abu, dan zat lainnya. Karbohidrat madu merupakan gula sederhana yang mudah diserap tubuh. Kurang lebih 85% dari gula yang terdapat dalam madu adalah fruktosa dan glukosa selebihnya adalah polisakarida dan oligosakarida (18). Protein yang terkandung dalam madu antara lain terdiri atas albumin, globulin, dan protease. Mineral dalam madu terdapat 18 unsur mineral esensial dan 19 unsur non-esensial. Mineral yang terkandung dalam madu adalah fosfor,

kalium, kalsium, besi dan natrium sebagai mineral yang dominan. Komposisi madu ditentukan oleh dua faktor utama yaitu komposisi nektar asal madu bersangkutan dan faktor-faktor eksternal tertentu (16).

Komposisi madu tercantum dalam tabel 1.

Tabel 1. Komposisi madu

No.	Kandungan	Jumlah (%)
1	Air	17,2
2	Fruktosa	38,19
3	Glukosa	31,28
4	Sukrosa	1,31
5	Maltosa dan disakarida tereduksi lainnya	7,31
6	Karbohidrat lainnya	1,5
7	Asam organik	0,57
8	Protein	0,26
9	Abu	0,17
10	Zat lain-lain	2,21

Sumber: Gojmerac (1983)

Madu mengandung enzim diastase dan investase. Madu kaya akan karbohidrat sederhana karena lebah pekerja meminum nektar dan memuntahkannya kembali sambil menambahkan enzim yang disebut enzim investase (23). Pemanasan maupun penyimpanan lama terhadap madu mengakibatkan inaktivasi enzim madu. Aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh pH lingkungan yang disebabkan oleh terjadinya perubahan ionisasi enzim, substrat, atau kompleks enzim substrat. Enzim investase akan mengubah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Diastase berperan dalam mengubah polisakarida menjadi karbohidrat yang lebih sederhana (19).

II.2.5 Sifat Fisika Kimia Madu

Madu berbentuk cairan kental seperti sirup, warnanya kuning pucat sampai coklat kekuningan, rasanya khas manis dengan aroma yang enak dan segar. Madu tidak mudah larut dalam air. Rendahnya kelarutan madu asli disebabkan rheologi asli madu yang berbentuk kental dengan viskositas tinggi serta adanya komponen-komponen lain dalam madu seperti protein, vitamin, dan mineral yang tidak dimiliki oleh madu buatan atau madu palsu. Madu bersifat higroskopis (mudah menarik air), oleh karena itu penyimpanan madu harus memakai tempat yang tidak tembus udara (19). Sifat higroskopis madu disebabkan madu merupakan larutan jenuh gula. Fruktosa merupakan gula yang paling bertanggung jawab akan sifat higroskopis madu karena fruktosa lebih mudah larut dibandingkan glukosa (18). Glukosa akan membuat madu berkrystal membentuk madu-permanen. Kandungan glukosa akan menentukan lama dan bentuk kristal. Kristalisasi adalah peristiwa pembentukan glukosa monohidrat dan kristal tersebut lalu memisahkan diri dari air dan fruktosa. Hal tersebut terjadi karena madu merupakan larutan yang lewat jenuh dan tidak stabil (16).

Madu memiliki sifat higroskopis yang tinggi, yaitu sangat mudah menyerap air dari lingkungan sekitar apabila terjadi kontak langsung dengan udara sehingga memicu peningkatan kadar air madu. Kadar air yang semakin tinggi dapat mempercepat pertumbuhan khamir dalam madu. Secara alami madu mengandung khamir yang bersifat osmofilik yang dapat

tumbuh pada medium dengan aktivitas air rendah, yaitu 0,62-0,65 (20). Kadar air dalam madu menentukan keawetan madu. Madu yang kadar airnya tinggi, mudah berfermentasi. Fermentasi terjadi karena khamir dari genus *Zygosaccharomyces* yang tahan terhadap konsentrasi gula tinggi, sehingga dapat hidup dalam madu. Sel khamir akan mendegradasi gula dalam madu (khususnya glukosa dan fruktosa) menjadi alkohol (etanol). Jika alkohol bereaksi dengan oksigen, alkohol tersebut akan membentuk asam asetat yang mempengaruhi kadar keasaman, rasa dan aroma madu. Pada akhir proses fermentasi akan terbentuk karbon dioksida dan air (18). Semakin banyak madu menyerap air maka kualitas mutunya semakin rendah sehingga dapat dikategorikan sebagai madu afkir. Madu afkir adalah madu yang telah menurun kualitasnya baik dari segi fisik dan kimia. Penurunan kualitas madu disebabkan adanya reaksi biokimia oleh mikroorganisme pada madu seperti *Zygosaccharomyces* dan penyimpanan madu yang sangat lama dengan kondisi suhu penyimpanan yang tidak terkontrol. Semakin panas suhu penyimpanan maka kadar *hidroksimetilfurfural* (HMF) meningkat. Winarno (1982) menyatakan bahwa kadar HMF dapat menjadi indikator kerusakan madu oleh pemanasan yang berlebihan atau karena pemalsuan dengan gula invert (21). Semakin lama penyimpanan madu semakin tinggi kadar HMF madu tetapi kenaikan kadar HMF tergantung pada suhu penyimpanan.

Kadar air madu tergantung dari keadaan cuaca, kadar air awal nektar, serta kekuatan koloni lebah (22). Kelembaban udara juga berpengaruh

terhadap kadar air madu, semakin rendah kelembaban udara maka semakin rendah pula kadar airnya. Kadar air madu di Indonesia tinggi disebabkan oleh kelembaban relatif (RH) udara di Indonesia yang tinggi (23). Kelembaban relatif (RH) Indonesia berkisar 60% hingga 90%, menghasilkan kadar air madu sekitar 18,3% sampai 33,1% (16).

Madu bersifat asam dengan pH 3,2-5. pH madu dipengaruhi oleh kandungan asam organik dan asam non organik. Asam organik yang dominan dalam madu adalah asam glukonat yang merupakan hasil perombakan glukosa oleh enzim. Asam organik ini sangat menentukan citarasa, aroma dan daya tahan madu terhadap mikroorganisme (16). Kandungan gula yang tinggi membuat madu terasa manis. Aroma madu disebabkan adanya senyawa-senyawa asam yaitu formaldehida, asetaldehida, aseton, isobutiraldehida, dan diasetil. Kandungan karbohidrat madu juga berpengaruh terhadap sifat fisik madu. Sifat higroskopis madu disebabkan madu merupakan larutan jenuh gula. Fruktosa merupakan gula yang paling bertanggung jawab akan sifat higroskopis madu karena fruktosa lebih mudah larut dibandingkan glukosa (22). Glukosa akan membuat madu berkrystal membentuk madu-permanen. Kandungan glukosa akan menentukan lama dan bentuk kristal. Kristalisasi adalah peristiwa pembentukan glukosa monohidrat dan kristal tersebut lalu memisahkan diri dari air dan fruktosa. Hal tersebut terjadi karena madu merupakan larutan yang lewat jenuh dan tidak stabil (16).

Selain madu yang rasanya manis ada juga yang rasanya asam dan pahit, bahkan ada juga madu yang beracun. Madu yang asam dihasilkan oleh genus trigona. Madu yang rasanya pahit dihasilkan dari bunga mahoni (sejenis bunga matahari). Sedangkan yang beracun adalah madu dari bunga rhododendron. Bunga tersebut merupakan bunga beracun (11).

II.2.6 Kualitas Madu

Masing-masing negara memiliki standar mutu madu tersendiri untuk dapat dijual dan dikonsumsi masyarakat. Standar mutu madu di Indonesia tercantum dalam Standar Nasional Indonesia (SNI) 2004 dan dapat dilihat dalam Tabel 2.

Tabel 2. Standar Nasional Mutu Madu di Indonesia

No.	Jenis uji	Satuan	Persyaratan
1.	Aktivitas enzim diastase	Diastase	Minimal 3
2.	Hidroksi metal furfural (HMF)	Number	Maksimal 50
3.	Air	mg/kg	Maksimal 22
4.	Gula pereduksi	%	Minimal 65
5.	Sukrosa	%, b/b	Maksimal 5
6.	Keasaman	%, b/b	Maksimal 50
7.	Padatan yang tak larut air	ml NaOH 1N/kg	Maksimal 0,5
8.	Abu	%, b/b	Maksimal 0,5
9.	Cemaran arsen (As)	%, b/b	Maksimal 0,5
10.	Cemaran logam	mg/kg	
	Timbal (Pb)		Maksimal 1,0
	Tembaga (Cu)	mg/kg	Maksimal 5,0
		mg/kg	

Keterangan : b/b= berat/berat
(Sumber : SNI 01-3545-2004)

Kadar HMF di Indonesia maksimal 50% tetapi sering ditemui madu dengan kadar HMF diatas standar. Hal ini disebabkan kadar air madu di Indonesia cukup tinggi sehingga diperlukan perlakuan untuk mengurangi kadar air madu tersebut dengan pemanasan. Pemanasan madu di masyarakat banyak yang tidak terkontrol sehingga memicu peningkatan kadar HMF yang berakibat penurunan kualitas madu dan tidak sesuai dengan standar yang telah ditetapkan (15).

II.2.7 Madu Palsu dan Madu Asli (18)

Madu palsu atau madu tiruan adalah semua bahan makanan yang memakai nama madu namun tidak diolah atau dihasilkan oleh lebah. Pemalsuan madu dapat digolongkan menjadi tiga macam yaitu pemalsuan volume, pemalsuan mutu, dan pemalsuan menyeluruh. Pemalsuan volume dilakukan dengan cara meningkatkan volume madu dengan ditambah bahan lain seperti fruktosa, glukosa, sirup, dan bahan pengental. Pemalsuan mutu biasanya dilakukan dengan memodifikasi kadar air. Pemalsuan menyeluruh yaitu madu yang dibuat tanpa menggunakan madu asli sebagai bahan utama, biasanya menggunakan campuran sagu, gula pasir, dan pewarna. Madu palsu tidak memiliki kandungan enzim dan juga tidak memiliki kandungan vitamin dan mineral yang sama dengan kandungan madu asli (24).

Berdasarkan Lee (2008), ada beberapa cara untuk membedakan madu asli dengan madu palsu. Cara pertama adalah mencampur madu dengan air putih di dalam gelas bening, madu asli akan terlihat keruh sedangkan madu palsu bening. Cara kedua yaitu isikan madu ke dalam sendok makan, kemudian dipanaskan di atas nyala lilin, madu asli akan berbuih dan buih meluber dari sendok sedangkan buih pada madu palsu tidak meluber. Jika madu dalam sendok tersebut sudah dingin, madu palsu akan terasa lengket dan madu asli terasa kalis, selanjutnya apabila diaduk dengan lidi maka madu asli akan mencair dan tidak membentuk benang tipis sedangkan madu palsu mengeras dan membentuk benang tipis. Cara ketiga

yaitu madu dimasukkan ke dalam toples dan diisi dengan potongan ikan mentah, kemudian disimpan selama 2 minggu. Ikan mentah pada madu asli akan berkerut dan tidak menimbulkan bau, sedangkan ikan pada madu palsu akan busuk dan menimbulkan bau. Cara lain untuk membedakan madu asli dan madu palsu adalah memberikan madu pada semut. Semut tidak akan memakan madu asli, jika semut memakan madu, berarti madu tersebut merupakan madu palsu. Malik (2009) menyatakan bahwa madu asli akan berbuih apabila dikocok dan buihnya tidak cepat hilang, sedangkan madu palsu buihnya cepat hilang.

Berdasarkan Nesta (2008), Iod dapat digunakan untuk menguji madu palsu. Cara uji iod dilakukan dengan melarutkan sedikit tepung jagung dalam air, kemudian ambil sekitar 5 ml dan dicampur dengan 20 gram madu. Setelah beberapa saat teteskan larutan iod, madu palsu akan menunjukkan biru.

II.2.8 Khasiat Madu

Secara umum, madu berkhasiat untuk menghasilkan energi, meningkatkan daya tahan tubuh, mempermudah proses pencernaan, serta untuk perawatan tubuh dan kecantikan. Penyakit yang dapat disembuhkan oleh madu diantaranya penyakit paru (tuberkulosis), radang usus, jantung, tekanan darah rendah, dan batu ginjal. Penyakit luar yang dapat diobati dengan madu adalah luka bakar, sariawan, bibir pecah-pecah, dan penyakit kulit lainnya (25).

II.3 Uraian Sistem Pertahanan Tubuh

II.3.1 Sistem Imun

Sistem imun didefinisikan sebagai mekanisme yang diperlukan tubuh untuk mempertahankan keutuhan tubuh sebagai perlindungan terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup. Sistem imun tubuh dibagi atas dua kelas yaitu sistem imun spesifik (*adaptive/acquired*) dan sistem imun non spesifik (*natural/innate*) (26). Mekanisme pertahanan tubuh oleh sistem imun alamiah bersifat spontan, tidak spesifik, dan tidak berubah baik secara kualitas maupun kuantitas bahkan setelah paparan berulang dengan patogen yang sama. Sedangkan sistem imun didapat muncul setelah proses mengenal oleh limfosit (*clonal selection*), yang tergantung pada paparan terhadap patogen sebelumnya (27).

II.3.2 Respon Imun Non Spesifik

Mekanisme imunitas non spesifik (sawar mekanis, fagosit, sel NK, dan sistem komplemen) memberikan pertahanan terhadap infeksi. Sistem imun non spesifik telah ada dan siap berfungsi sejak lahir. Disebut sistem imun non spesifik karena tidak ditujukan terhadap organisme tertentu (26).

Sistem imun non spesifik dibagi menjadi tiga kelompok yaitu:

1) Mekanisme pertahanan fisik/mekanik

Yaitu kulit, selaput lendir, silia dalam saluran nafas, batuk, dan bersin

2) Mekanisme pertahanan terlarut

a. Pertahanan biokimia

lisozim, sebaseus, asam lambung, laktoferin, asam neuromenik. Bahan yang disekresi mukosa saluran napas dan telinga berperan dalam pertahanan tubuh secara biokimiawi. Sebaseus dan keringat yang memiliki pH rendah dan berbagai asam lemak yang dilepas kulit mempunyai efek denaturasi protein sehingga dapat mencegah infeksi yang terjadi pada kulit.

b. Pertahanan humoral

Interferon, komplemen, protein fase akut dan kolektin. Komplemen tersusun atas sejumlah besar protein yang jika diaktifkan akan memberikan proteksi terhadap infeksi dan berperan dalam respon inflamasi. Komplemen berperan sebagai opsonin yang meningkatkan fagositosis, sebagai faktor kemotaktik, dan menimbulkan destruksi pada bakteri dan parasit. Komplemen dapat diaktifkan secara langsung oleh mikroba atau produknya/jalur alternatif atau oleh antibodi/jalur klasik. Komplemen rusak oleh pemanasan pada suhu 56°C selama 30 menit

Kolektin adalah protein yang berfungsi sebagai opsonin yang dapat mengikat karbohidrat pada permukaan antigen yang selanjutnya difagositosis oleh sel-sel fagosit.

Interferon adalah sitokin berupa glikoprotein yang diproduksi makrofag yang diaktifkan sel NK, dan berbagai sel tubuh yang mengandung nukleus dan dilepas sebagai respon terhadap infeksi virus. Produksi IFN diinduksi oleh infeksi virus atau suntikan

polinukleotida sintetik. IFN dibagi menjadi dua tipe yaitu IFN tipe 1 dan IFN tipe 2. IFN tipe 1 terdiri atas IFN- α yang disekresi makrofag dan leukosit lain, IFN- β disekresi fibroblas, sedangkan IFN tipe 2 terdiri atas IFN- γ yang juga disebut IFN imun, disekresi oleh sel T setelah dirangsang oleh antigen spesifik.

3) Pertahanan selular

Makrofag, fagosit, dan sel NK berperan dalam sistem imun non selular. Sel-sel fagosit bertugas menangkap, mengolah, dan selanjutnya mempresentasikan antigen kepada sel T yang dikenal sebagai APC atau sel penyaji. Fagositosis merupakan salah satu dari jalur penghancuran antigen dalam tubuh. Fagositosis yang efektif dalam invasi kuman dini akan mencegah timbulnya infeksi (26).

Sel makrofag berasal dari promonosit sum-sum tulang yang berdiferensiasi menjadi monosit darah. Sel NK adalah salah satu komponen dalam limfosit, jumlahnya sekitar 5-15% dari limfosit dalam sirkulasi dan 45% dari limfosit dalam jaringan. Sel tersebut aktif terhadap virus dan sel tumor. Sel mast berperan dalam reaksi alergi yang berhubungan dengan hipersensivitas (28).

II.3.3 Respon Imun spesifik

Sistem imun spesifik mempunyai kemampuan mengenal benda asing. Benda asing yang pertama kali muncul segera dikenal oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitasi sel-sel sistem imun tersebut. Benda asing yang sama jika terpajan ulang akan dikenal lebih cepat dan selanjutnya

dihancurkan (26). Sistem imun spesifik bekerja melalui 3 mekanisme utama yaitu:

1) Sistem imun spesifik humoral

Sel B memiliki peran utama dalam sistem imun spesifik humoral. Sel B berasal dari sel asal multipoten di sum-sum tulang. Bila sel B dirangsang oleh antigen, sel tersebut akan berproliferasi, berdiferensiasi, dan berkembang menjadi sel plasma yang membentuk antibodi. Antibodi ini berkaitan dengan antigen membentuk kompleks antara antigen dengan antibodi yang dapat mengaktivasi komplemen dan menyebabkan hancurnya antigen tersebut.

2) Sistem imun spesifik selular

Sel T berperan pada sistem imun spesifik selular. Sel T dibentuk dalam sum-sum tulang, proliferasi dan diferensiasi terjadi di dalam kelenjar timus. Fungsi utama sistem imun spesifik selular adalah pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraselular, virus, jamur, dan parasit.

3) Interaksi respon imun humoral dan selular

Interaksi ini disebut *Antibody Dependent Cell Mediated Cytotoxicity* (ADCC) karena sitolisis baru terjadi bila dibantu oleh antibodi, dalam hal ini antibodi berfungsi melapisi antigen sasaran, sehingga sel NK yang mempunyai reseptor terhadap fragmen Fc, antibodi tersebut dapat melekat erat pada sel atau antigen sasaran. Perlekatan sel NK pada

kompleks antigen-antibodi mengakibatkan sel NK dapat menghancurkan sel sasaran (28).

II.3.4 Hubungan antara sistem imun spesifik dan non spesifik

Sistem imun spesifik dan non spesifik saling berinteraksi dalam menghadapi infeksi. Sistem imun nonspesifik bekerja dengan cepat dan merangsang sistem imun spesifik. Mikroba ekstraseluler mengaktifkan komplemen melalui jalur lektin (26). Kompleks antigen-antibodi mengaktifkan komplemen melalui jalur klasik. Virus intraselular merangsang sel yang terinfeksi untuk melepas IFN yang mengerahkan dan mengaktifkan sel NK. Sel dendritik terinfeksi bermigrasi ke kelenjar getah bening dan mempresentasikan antigen yang dimakannya ke sel T. Sel T yang diaktifkan bermigrasi ke tempat infeksi dan memberikan bantuan ke sel NK dan makrofag (27).

II.4 Antibodi

Antibodi adalah globulin (suatu protein) yang terbentuk secara spesifik oleh adanya induksi respon imun dari imunogen. Ciri penting dari antibodi adalah spesifik dan bersifat biologik-aktif. Antibodi tersusun dari sekitar 20% dari protein dalam plasma darah (29).

Fungsi yang paling penting dari antibodi adalah menetralkan virus dan toksin, opsonisasi mikroba, mengaktifkan komplemen, dan mencegah

serangan mikroba terhadap permukaan mukosa. Selain itu, antibodi juga memiliki kemampuan katalitik atau enzimatis (29).

II.4.1 Pembentukan Antibodi (20)

Bila antigen pertama kali masuk ke dalam tubuh, terjadi respon imun primer yang ditandai dengan munculnya IgM beberapa hari setelah pemaparan. Saat pemaparan antigen dan munculnya IgM disebut sebagai *lag phase*. Kadar IgM mencapai puncaknya setelah 7 hari. Enam sampai tujuh hari setelah pemaparan, mulai muncul IgG dalam serum, sedangkan IgM mulai berkurang sebelum kadar IgG mencapai puncak yaitu 10-14 hari setelah pemaparan antigen. Kadar antibodi kemudian berkurang dan umumnya hanya sedikit yang dapat dideteksi 4-5 minggu setelah pemaparan (27).

Respon imun sekunder terjadi jika terjadi pemaparan antigen dua kali. IgM dan IgG dapat meningkat dengan cepat secara nyata dengan *lag phase* yang pendek. Puncak kadar IgM pada respon sekunder umumnya tidak melebihi puncaknya pada respon primer, sebaliknya kadar IgG meningkat lebih tinggi dan berlangsung lebih lama. Perbedaan tersebut terjadi karena adanya sel B dan sel T memori akibat pemaparan pertama (28).

II.4.2 Immunoglobulin

Imunoglobulin adalah glikoprotein yang diproduksi oleh sel B yang dihasilkan dalam bentuk fraksi globulin γ pada serum. Imunoglobulin dibentuk dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai reseptor permukaan terhadap antigen dan sebagai antibodi yang disekresikan ke dalam jaringan ekstraseluler (27).

II.4.3 Klasifikasi imunoglobulin (23, 24)

Pada manusia dikenal 5 macam kelas imunoglobulin yang berbeda. Masing-masing memiliki struktur kimia dan peran biologi spesifik yang berbeda. Jenis Imunoglobulin yaitu: imunoglobulin G (IgG), imunoglobulin M (IgM), imunoglobulin D (IgD), imunoglobulin E (IgE), dan imunoglobulin A (IgA) (30).

Imunoglobulin G merupakan antibodi yang paling banyak terdapat dalam tubuh manusia. Dihasilkan hanya dalam waktu beberapa hari dan memiliki masa hidup beberapa minggu sampai beberapa tahun. IgG banyak ditemukan dalam sum-sum tulang belakang, darah, limfa dan cairan peritoneal. IgG membantu imunitas melawan beberapa agen infeksi yang disebarkan melalui darah seperti bakteri, virus, dan jamur. IgG mempunyai waktu paruh selama 23 hari dan merupakan imunitas yang baik (sebagai serum transfer). IgG mampu mengaglutinasi antigen yang tidak larut dan merupakan satu-satunya imunoglobulin yang mampu melewati plasenta (30).

Imunoglobulin A terdapat dalam saliva, keringat, air mata, cairan mukosa, susu, cairan lambung, dan usus. Fungsi IgA antara lain : mencegah kuman menyerang permukaan sel mukosa, bersifat bakterisida dengan

kondisinya sebagai lisozim yang ada dalam cairan sekretori yang mengandung IgA, dan sebagai antiviral. IgM merupakan antibodi yang terdapat pada darah dan getah bening. IgM memiliki waktu paruh 5 hari. Pada saat tubuh bertemu dengan benda asing, IgM yang pertama dihasilkan tubuh untuk melawan benda asing tersebut. Janin mampu memproduksi IgM pada usia kehamilan enam bulan. Jika ada kuman atau bakteri yang coba menyerang, produksi IgM janin akan meningkat. Untuk mengetahui apakah janin telah terinfeksi atau tidak, bisa dilihat kadar IgM dalam darah. IgM sangat efektif dalam mengaktifkan komplemen (31).

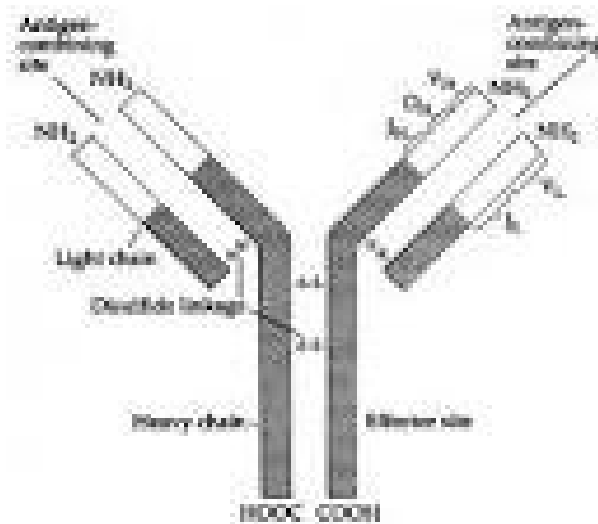
Imunoglobulin D disebut juga rantai delta. IgD tidak mengaktifkan sistem komplemen dan tidak dapat menembus plasenta. IgD tidak mampu bekerja sendiri, tetapi menempelkan diri ke permukaan sel-sel T, lalu membantu sel T menangkap antigen (31).

Imunoglobulin E (IgE) merupakan antibodi yang beredar dalam aliran darah dan dihasilkan pada saat respon alergi seperti asma. Di dalam serum, konsentrasi IgE sangat rendah, tetapi kadarnya akan naik jika terkena infeksi parasit tertentu, terutama yang disebabkan oleh cacing. IgE berukuran sedikit lebih besar dibandingkan dengan molekul IgG (31).

II.4.4 Struktur imunoglobulin

Struktur dasar imunoglobulin terdiri atas rantai berat (H-chain) yang identik dan 2 rantai ringan (L-chain) yang juga identik. Rantai ringan dibagi atas 2 yaitu kappa dan lambda yang terdiri atas 230 asam amino serta 5 jenis rantai berat yang tergantung pada kelima jenis imunoglobulin. Rantai

berat terdiri atas 450-600 asam amino, sehingga berat dan panjang rantai berat adalah 2 kali rantai ringan. Molekul imunoglobulin mempunyai rumus bangun heterogen (27).



Gambar 2. Struktur imunoglobulin
(sumber : www.9e.devbio.com)

II.4.5 Fungsi imunoglobulin

Pada beberapa keadaan, antibodi melaksanakan fungsi perlindungan dengan menetralkan antigen secara langsung, tetapi yang lebih sering adalah dalam melaksanakan fungsinya, antibodi dibantu oleh sistem efektor lain misalnya fagosit, komplemen, dan sel sitotoksik (27).

Reseptor Fc (FcRI, FRII, FcRIII) bersama-sama dengan reseptor komplemen CRI dan CR3 memiliki peranan penting dalam menangkap dan menyingkirkan kompleks imun. Bentuk transmembran reseptor FcRIII pada makrofag dan sel NK diduga terlibat dalam merangsang sitotoksitas keluar. Disamping itu reseptor Fc yang terdapat pada beberapa sub populasi sel T

dan sel B diduga terlibat dalam pengaturan produksi berbagai isotop antibodi (32).

II.5 Immunoglobulin G

II.5.1 Sifat fisika kimia

Imunoglobulin G merupakan komponen utama imunoglobulin serum. IgG memiliki berat molekul 150.000 dalton, kadarnya dalam serum 1.000 mg/dl, 75% dari total imunoglobulin. IgG didistribusikan secara ekstravaskular (sekitar 50%). Laju sintesisnya 2,3 mg per hari untuk berat badan 70 kg dan waktu paruhnya 23 hari. Kandungan karbohidrat dari IgG adalah 2,5% (30).

II.5.2 Struktur imunoglobulin G

Imunoglobulin G mempunyai struktur dasar imunoglobulin yang terdiri dari 2 rantai berat H dan 2 rantai ringan L yang dihubungkan oleh ikatan disulfida. Pada orang normal IgG merupakan 75% dari seluruh jumlah imunoglobulin (28).

Imunoglobulin G terdiri dari 4 subkelas yaitu IgG1, IgG2, IgG3, dan IgG4. masing-masing mempunyai perbedaan yang tidak banyak, dengan perbandingan jumlahnya sebagai berikut: IgG1 40-70%, IgG2 4-20%, IgG3 4-8%, dan IgG4 2-6%. Waktu paruh IgG adalah 3 minggu, kecuali subkelas IgG3 yang hanya mempunyai masa paruh 1 minggu. Kemampuan mengikat komplemen setiap subkelas IgG juga tidak sama, seperti IgG3 > IgG1 > IgG2 > IgG4. Sedangkan IgG4 tidak dapat mengikat komplemen dari jalur klasik

(ikatan C1q) tetapi melalui jalur alternatif. Lokasi ikatan C1q pada molekul IgG adalah pada domain CH2 (30).

II.5.3 Aktivitas biologi dan imunologi

IgG dapat menembus plasenta masuk ke janin dan berperan pada imunitas bayi sampai umur 6-9 bulan. IgG dan komplemen bekerja saling membantu sebagai opsonin pada pemusnahan antigen. IgG mempunyai sifat opsonisasi yang efektif karena sel-sel fagosit, monosit dan makrofag mempunyai reseptor untuk fraksi Fc dan IgG sehingga dapat mempererat hubungan antara fagosit dengan sel sasaran. Selanjutnya proses opsonisasi tersebut dibantu oleh reseptor untuk komplemen pada permukaan fagosit. IgG juga berperan dalam imunitas selular karena dapat merusak antigen sel melalui interaksi dengan sistem komplemen atau melalui efek sitolitik sel NK, neutrofil dan eosinofil. Antibodi IgG paling efektif dalam reaksi pengendapan imun (30).

II.6 Antigen

Istilah antigen sendiri merupakan singkatan dari *antibodi-generator* (pembangkit antibodi). Antigen adalah bahan yang dapat memacu respon imun dan dapat berinteraksi dengan antibodi atau sel T yang tersensitasi (32)

Secara fungsional antigen dibagi atas 2 yaitu:

1) Imunogen

Adalah molekul bahan yang dapat berinteraksi dengan antibodi yang ada dan sel T, menginduksi respon imun membentuk antibodi spesifik.

2) Hapten

Adalah molekul bahan yang hanya dapat berinteraksi dengan antibodi yang ada, misalnya senyawa kimia dinitrofenol. Hapten dapat berubah menjadi imunogen apabila hapten terikat dengan molekul besar (makromolekul) sebagai pembawa. Misalnya antibiotika penisillin dan turunannya.

Bagian dari antigen yang dapat berinteraksi dengan antibodi disebut epitop atau determinan antigen. Epitop yang menginduksi pembentukan antibodi spesifik. Sedangkan bagian dari antibodi yang terikat dengan epitop disebut paratop (27).

Antigen memiliki struktur tiga dimensi dengan dua atau lebih *determinant site*. *Determinant site* merupakan bagian dari antigen yang dapat melekat pada bagian sisi pengikatan pada antibodi. Antigen dapat berupa protein, sel bakteri atau zat kimia yang dapat dikeluarkan oleh suatu mikroorganisme. Antigen adalah molekul asing yang mendatangkan suatu respon spesifik dari limfosit. Salah satu cara antigen menimbulkan respon kekebalan adalah dengan cara mengaktifkan sel B untuk mensekresi protein yang disebut antibodi. Masing-masing antigen mempunyai bentuk molekuler khusus dan merangsang sel-sel B tertentu untuk mensekresi antibodi yang berinteraksi secara spesifik dengan antigen tersebut (Campbell, 2004). Interaksi antigen-antibodi merupakan interaksi kimiawi yang dapat dianalogikan dengan interaksi enzim dengan substratnya. Spesifitas kerja antibodi mirip dengan enzim (Sadewa, 2008).

II.7 Aglutinasi

Ikatan protein antigen yang multivalen dengan antibodi membentuk endapan (presipitasi) sedangkan ikatan sel atau partikel yang lebih besar dengan antibodi terhadap antigen pada permukaan menyebabkan aglutinasi. Reaksi aglutinasi terjadi dalam 2 tahap. Tahap pertama antibodi dengan salah satu reseptor pengikat antigen bereaksi dengan antigen. Tahap kedua, antibodi bereaksi dengan molekul antigen lain yang mungkin sudah berikatan dengan salah satu molekul antibodi sehingga terbentuk gumpalan antigen-antibodi (29). Faktor muatan listrik protein yang terdapat pada permukaan partikel turut menentukan terjadinya aglutinasi. Protein bermuatan negatif cenderung saling menolak dan menyulitkan aglutinasi, atau menyebabkan aglutinasi tidak lengkap. Partikel yang membawa antigen pada permukaan dapat diikat oleh antiserum selanjutnya partikel dapat berkumpul dengan partikel lainnya dengan terikat atau diikat oleh antibodi. Fenomena aglutinasi dapat dijadikan pedoman tes kualitatif, secara sederhana mengindikasikan kehadiran antibodi, itu juga yang dapat menyediakan cara pengukuran semikuantitatif yang berguna untuk mengetahui konsentrasi antibodi yang mengaglutinasi. Prosedur yang umum untuk kasus terakhir yaitu menambahkan beberapa partikel yang membawa antigen pada satu seri tabung yang mengandung pengenceran dari antibodi.

Pengenceran tertinggi dari serum atau larutan yang masih menunjukkan aglutinasi didefinisikan sebagai titer antibodi (27). Hemaglutinasi merupakan cara untuk menemukan antibodi atas dasar aglutinasi sel darah merah, sebagai antigen dapat digunakan sel darah merah sendiri atau antigen yang mensensitasi sel darah merah (32).

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah mikropipet 25 μ L dan 50 μ L (*Human*), inkubator, sumur mikrotiter tipe U (*well plate* 96 lubang), sentrifuge (*Universal 16 A*), timbangan analitik (*Dragon 303*), timbangan gram (*Denver*), timbangan hewan, kompor listrik, alat-alat gelas yang biasa dipakai di laboratorium, shaker rotator (*Health*), lemari pendingin, spuit dan jarum oral.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu air suling, alkohol 70 %, kapas, larutan phosphate buffered saline (PBS), dan sel darah merah domba (SDMD).

III.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah madu paliasa (hasil penelitian Aliyah) yang terdiri atas:

M(A) : Madu yang dihasilkan oleh lebah *Apis mellifera* yang diberi pakan tambahan berupa campuran air dan sirup (sukrosa 85% b/v) dengan perbandingan 2 : 3 (tanpa paliasa)

MP(B) : Madu yang dihasilkan oleh lebah *Apis mellifera* yang diberi pakan tambahan berupa campuran infus daun paliasa konsentrasi 20 % dan sirup (sukrosa 85% b/v) dengan perbandingan 2 : 3

MP(C) : Madu yang dihasilkan oleh lebah *Apis mellifera* yang diberi pakan tambahan berupa campuran infus daun paliasa konsentrasi 40 %

dan sirup (sukrosa 85% b/v) dengan perbandingan 2 : 3

MP(D) : Madu yang dihasilkan oleh lebah *Apis mellifera* yang diberi pakan tambahan berupa campuran infus daun paliasa konsentrasi 60 % dan sirup (sukrosa 85% b/v) dengan perbandingan 2 : 3.

III.3 Pembuatan Bahan Penelitian

III.3.1 Pembuatan Phosphat Buffered Saline (PBS) pH 7,2 (33)

Phosphat Buffer Saline (PBS) pH 7,2 dibuat dengan cara dicampurkan larutan I yaitu larutan $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{H}_2\text{O}$ 1,3 g/L dan NaCl 8.3 g/L sebanyak 280 ml dengan larutan II yaitu NaH_2PO_4 1,42 g/L dan NaCl 8,3 g/L sebanyak 720 ml

III.3.2 Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah Domba (SDMD) 2% (33)

Darah domba sebanyak 1 ml ditampung dalam tabung yang bersih dan kering yang berisi 1 mg EDTA yang berfungsi sebagai antikoagulan, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm untuk memisahkan sel darah merah domba dari plasmanya. Selanjutnya sel darah merah domba yang diperoleh dicuci dengan menambahkan PBS dalam tabung, lalu tabung tersebut dibolak-balik beberapa kali, setelah itu disentrifuge kembali. Pencucian dilakukan paling sedikit 3 kali. Setelah disentrifuge, PBS dikeluarkan sehingga yang tertinggal adalah sel darah merah domba. Selanjutnya ditambahkan lagi PBS dengan jumlah yang sama hingga diperoleh suspensi SDMD 50 %. Sebanyak 1 ml SDMD 50 % diencerkan dengan 24 ml PBS hingga diperoleh suspense antigen (SDMD 2 % v/v).

III.4 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji

III.4.1 Pemilihan Hewan Uji (34)

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus*) yang sehat dan dewasa dengan bobot badan 20-30 g.

III.4.2 Penyiapan mencit Jantan (34)

Mencit diadaptasikan selama satu minggu dan ditimbang bobotnya. Sebanyak 15 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan untuk melihat aktivitas Imunoglobulin G. Setiap kelompok terdiri atas tiga ekor mencit. Perlakuan I: air suling sebagai kontrol. Perlakuan II: (M(A), perlakuan III: MP(B), perlakuan IV: MP(C) dan kelompok V: MP(D).

III.5 Pengujian aktivitas imunoglobulin G pada hewan uji

III.5.1 Perlakuan terhadap hewan uji

Mencit jantan diimunisasi dengan 1 ml SDMD 2 % secara intraperitoneal. Satu hari setelah imunisasi, masing-masing mencit diberi perlakuan. Kelompok I diberi air suling, kelompok II diberi M(A), kelompok III diberi MP(B), kelompok IV diberi MP(C), dan kelompok V diberi MP(D) dengan dosis 1 ml/30 bobot badan mencit secara oral, setiap hari selama 9 hari. Pada hari kesepuluh setelah imunisasi, darah mencit diambil secara intrakardial untuk mengetahui aktivitas imunoglobulin G.

III.5.2 Pengambilan Sampel darah hewan uji

Sampel darah hewan uji diambil pada hari kesepuh setelah imunisasi secara intrakardial, kemudian ditempatkan pada suhu kamar selama 1 jam hingga darah menggumpal, lalu disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit kemudian diambil serumnya (supernatan).

III.6 Uji Hemaglutinasi (33)

Serum yang diperoleh diencerkan secara double dilution dengan PBS dengan perbandingan 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, dan 1/512. Dari masing- masing perbandingan, dipipet sebanyak 50 μ L dan diletakkan pada 8 lubang sumur mikropipet (*well plate* 96 lubang) untuk setiap konsentrasi madu paliasa, setelah itu ditambahkan 50 μ L SDMD 2 % pada setiap sumur dan digoyang-goyangkan selama 5 menit pada shaker rotator agar homogen, kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu kamar dan diamati aglutinasi yang terjadi.

III.7 Pengumpulan dan analisis data

Data dikumpulkan berdasarkan pengenceran tertinggi serum darah mencit yang masih mampu mengaglutinasi sel darah merah domba pada sumur mikrotiter, selanjutnya data dianalisis secara statistika.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Tabel 3. Data uji aktivitas imunoglobulin G

Perlakuan	Titer imunoglobulin G				
	Kontrol	M(A)	MP(B)	MP(C)	MP(D)
1	1/8	1/32	1/256	1/128	1/16
2	1/8	1/32	1/128	1/128	1/16
3	1/8	1/16	1/256	1/128	1/32

Keterangan :

Titer imunoglobulin G: Nilai tingkat pengenceran serum yang masih mampu mengaglutinasi SDMD 2%

M(A) : Madu A

MP(B) : Madu paliasa B

MP(C) : Madu paliasa C

MP(D) : Madu paliasa D

IV.2 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian madu paliasa terhadap aktivitas imunoglobulin G pada mencit (*Mus musculus*). Penelitian ini menggunakan mencit yang dibagi dalam 5 kelompok, masing – masing kelompok terdiri atas 3 ekor mencit. Kelompok pertama sebagai kontrol diberikan air suling, kelompok kedua diberikan M(A), kelompok ketiga diberikan MP(B), kelompok keempat diberikan MP(C), dan kelompok kelima diberikan MP(D).

Antigen yang digunakan untuk induksi produksi antibodi dalam penelitian ini adalah sel darah merah domba (SDMD) karena merupakan antigen yang terbaik untuk pengujian produksi antibodi pada hewan percobaan mencit (31). Sel darah merah domba 2% diinjeksikan ke tubuh mencit secara intraperitoneal, satu hari setelah penyuntikan SDMD 2%, mencit diberi air suling, M(A), MP(B), MP(C), dan MP(D) selama 9 hari berturut-turut. Pada hari kesepuluh setelah penginjeksian, darah mencit diambil secara intrakardial karena sesuai dengan waktu pematangan IgG yaitu setelah 10-14 hari terkena antigen (30).

Pada uji hemaglutinasi dilakukan dengan menambahkan antigen yang sama pada saat imunisasi yaitu SDMD 2%. Hal ini dilakukan karena infeksi berulang menfungsikan sel memori yang mengenal antigen sebagai suatu benda asing dan segera ditangkap oleh antibodi. Interaksi antara antigen dengan antibodi menyebabkan aglutinasi (27). Gumpalan yang terbentuk antara antigen dan antiserum spesifik akan bersatu dan akhirnya mengendap sebagai gumpalan-gumpalan besar dan mudah terlihat dengan cairan diintinya tetap jernih. Hal ini terjadi karena pada umumnya antibodi memiliki lebih dari satu reseptor pengikat antigen, sehingga antibodi bereaksi dengan molekul antigen lain yang mungkin sudah berikatan dengan salah satu molekul antibodi dan terbentuklah gumpalan (31).

Proses aglutinasi antigen oleh antibodi IgG dapat berlangsung dengan baik apabila dalam kondisi yang kondusif yaitu pada suhu 37-56⁰C dan dengan adanya gerakan. Oleh karena itu segera setelah kontak antara

sampel darah mencit dan antigen dalam *well plate*, maka sebelum diinkubasi terlebih dahulu dilakukan pengadukan. Sebagai media pelarut digunakan PBS yang terbuat dari NaCl dalam buffer fosfat, pembentukan garam dari PBS membantu proses aglutinasi (31).

Data pengamatan titer aglutinasi menunjukkan terjadinya peningkatan aktivitas imunoglobulin G setelah pemberian madu paliasa. Madu paliasa (B) dapat mengaglutinasi sel darah merah sampai pada tingkat pengenceran 1/256. Pemberian madu paliasa (C) dapat mengaglutinasi sel darah merah sampai pada tingkat pengenceran 1/128. Sedangkan pemberian madu paliasa (D), dapat mengaglutinasi sampai pada tingkat pengenceran 1/32. Hal ini memberikan gambaran bahwa pemberian madu paliasa (B) memberikan hasil yang paling optimum dalam meningkatkan imunoglobulin G. Peningkatan konsentrasi berbanding terbalik dengan peningkatan daya ikat antibodi terhadap antigen. Hal ini mungkin saja terjadi dan diperkirakan terjadi karena semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, jumlah zat-zat yang dapat bersifat immunosupresan juga dapat meningkat sehingga efektivitas kerjanya sebagai immunostimulan menurun (35). Madu A memiliki efek yang sama dengan madu paliasa D, hal ini terjadi karena infus daun paliasa memiliki konsentrasi tertinggi yang diberikan terhadap lebah sehingga kemungkinan lebah tidak memakan infus paliasa tersebut, berbeda dengan madu paliasa B dan madu paliasa C yang memiliki konsentrasi yang lebih rendah.

Naim (2004) menjelaskan bahwa senyawa flavonoid dalam madu dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh terutama dalam proses fagositosis yaitu bersama-sama dengan neutrofil melemahkan dinding sel bahan asing yang berbahaya bagi tubuh, sehingga dinding sel bahan tersebut akan melemah dan akan mengalami lisis.

Madu mengandung fruktosa, glukosa, senyawa flavanoid dan senyawa antioksidan seperti senyawa fenolik, vitamin C, katalase, dan pinocembrin (9). Sedangkan Paliasa mengandung senyawa senyawa kimia saponin, kardenolin, bufadienol, antrakinon, terpenoid, fenolik (3), senyawa alkaloid dan flavanoid (4). Kecenderungan peningkatan kadar IgG pada MP(B) disebabkan karena kandungan flavanoid yang terdapat dalam madu dan paliasa yang bersifat imunostimulator. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sueprapto yang secara umum menyebutkan bahwa golongan flavanoid mempunyai sifat imunostimulator.

Berdasarkan analisis statistika, dengan menggunakan metode rancangan acak lengkap dan analisis sidik ragam (dapat dilihat pada lampiran II hal. 46) memperlihatkan bahwa pemberian madu paliasa memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas imunoglobulin G yang dapat dinilai dari F hitung yang lebih besar dari F tabel pada taraf 5%. Analisis antar perlakuan menggunakan uji beda jarak nyata Duncan (tabel 4 hal. 49) untuk mengetahui seberapa besar perbedaan pengaruh yang dihasilkan oleh masing-masing perlakuan menunjukkan bahwa:

- Pemberian M(A), MP(B), MP(C), dan MP(D) memberikan pengaruh terhadap aktivitas imunoglobulin G (IgG)
- M(A) memiliki efek yang sama dengan MP(D) dalam meningkatkan aktivitas IgG
- Pemberian MP(B) memberikan pengaruh yang sangat signifikan dalam meningkatkan aktivitas IgG dibandingkan dengan kelompok kontrol (air suling)

Sehingga dapat diketahui bahwa pemberian madu paliasa (B) memberikan hasil yang terbaik terhadap peningkatan titer hemaglutinasi yang juga menunjukkan bahwa pemberian pada konsentrasi inilah yang memberikan pengaruh yang sangat baik terhadap peningkatan aktivitas imunoglobulin G pada mencit.

Beberapa penelitian sebelumnya tentang madu paliasa antara lain Felix melaporkan bahwa pemberian M(A), MP(B), MP(C), dan MP(D) memberikan pengaruh yang sangat nyata dalam meregenerasi sel hati tikus jika dibandingkan dengan kontrol negatif (air suling) (36). Tiara melaporkan MP(C) memiliki efek hepatogeneratif yang lebih baik dibandingkan dengan madu atau paliasa sendiri berdasarkan penurunan SGPT dan SGOT setelah hati dirusak dengan diinduksi menggunakan karbon tetraklorida (37). Irmayani melaporkan bahwa MP(B), MP(C) dan MP(D) berpengaruh sangat signifikan terhadap aktivitas antibakteri pada bakteri uji *Bacillus subtilis* dibandingkan dengan madu kontrol (38).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Arziana menunjukkan bahwa paliasa dapat mengaglutinasi sel darah merah pada tingkat pengenceran 1/128. Sedangkan madu paliasa dapat mengaglutinasi sel darah merah sampai pada tingkat pengenceran 1/256 sehingga dapat disimpulkan bahwa penggunaan madu paliasa dapat meningkatkan imunitas yang lebih efektif dibandingkan dengan hanya menggunakan paliasa saja.

Berdasarkan hasil penelitian, dapat diketahui bahwa madu paliasa selain sebagai hepatoregenerator dan sebagai antibakteri, juga sebagai imunomodulator.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data secara statistika dengan menggunakan metode rancangan acak lengkap dan uji Duncan, maka disimpulkan bahwa :

1. M(A), MP(B), MP(C), dan MP(D) dapat meningkatkan aktivitas imunoglobulin G
2. M(A) memiliki efek yang sama dengan MP(D) dalam meningkatkan aktivitas imunoglobulin G
3. MP(B) menunjukkan kemampuan meningkatkan aktivitas imunoglobulin G yang paling optimum.

V.2 Saran

Diharapkan penelitian ini dapat dilanjutkan untuk mengisolasi senyawa kimia yang terdapat dalam madu paliasa yang berperan sebagai imunomodulator.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fuziah M. *Tanaman Obat Keluarga (TOGA)*. Penerbit Swadaya. Jakarta. 1995. Hal. 2
2. Heyne K. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Ed III. Terjemahan oleh Balitbang Kehutanan. Yayasan Sarana Warna Jaya. Jakarta. 1987. Hal. 1352-1353
3. Raflizar. *Dekok Daun Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) Sebagai Obat Radang Hati Akut*. Pusat Penelitian dan Pemberantasan Penyakit. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 2006. Hal. 1-5
4. Taebe, B. *Standardisasi Ekstrak Daun Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) Sebagai Bahan Baku Sediaan Fitofarmaka*. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin. Makassar. 2004
5. Alwy MK. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) Terhadap Pengidap HBs Ag Positif/VHB*. [Http://www.fkumi.ac.id/index.php](http://www.fkumi.ac.id/index.php). Diakses 23 November 2012
6. Bokko A. *Efek Ekstrak n-Heksan Daun Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) Terhadap Aktivitas Immunoglobulin G Pada Mencit (Mus musculus)*. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar. 2012
7. Pusat Perlebahan Apiari Pramuka. *Lebah Madu : Cara Berternak dan Pemanfaatan*. Penebar Swadaya. Jakarta. 2003. Hal.77
8. Bajry HA. *Khasiat Madu Untuk Kesehatan* //<http://www.id.shvoong.com/Medicine-and-health/2044418/khasiat-madu-untuk-kesehatan>. Diakses Tanggal 19 November 2012
9. Erguder, B.I., Kilicoglu, S.S., Namuslu, M., Kilicoglu, B., Devrim, E. and Kismet, K. 2008. *Honey Prevents Hepatic Damage Induced by Obstruction of The Common Bile Duct*. *World Journal of Gastroenterology*. 14.(23) : 3729-3732
10. Rismunandar. 1996. *Berwiraswasta dengan Beternak Lebah*. Sinar Baru. Bandung.
11. Aura, G. *Madu dan Sistem Kekebalan Tubuh (Imunitas)*. (serial on the internet). Diakses 16 November 2012. Available from <http://www.ratumadu.co.id/data> ilmiah/madu

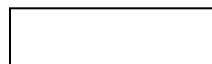
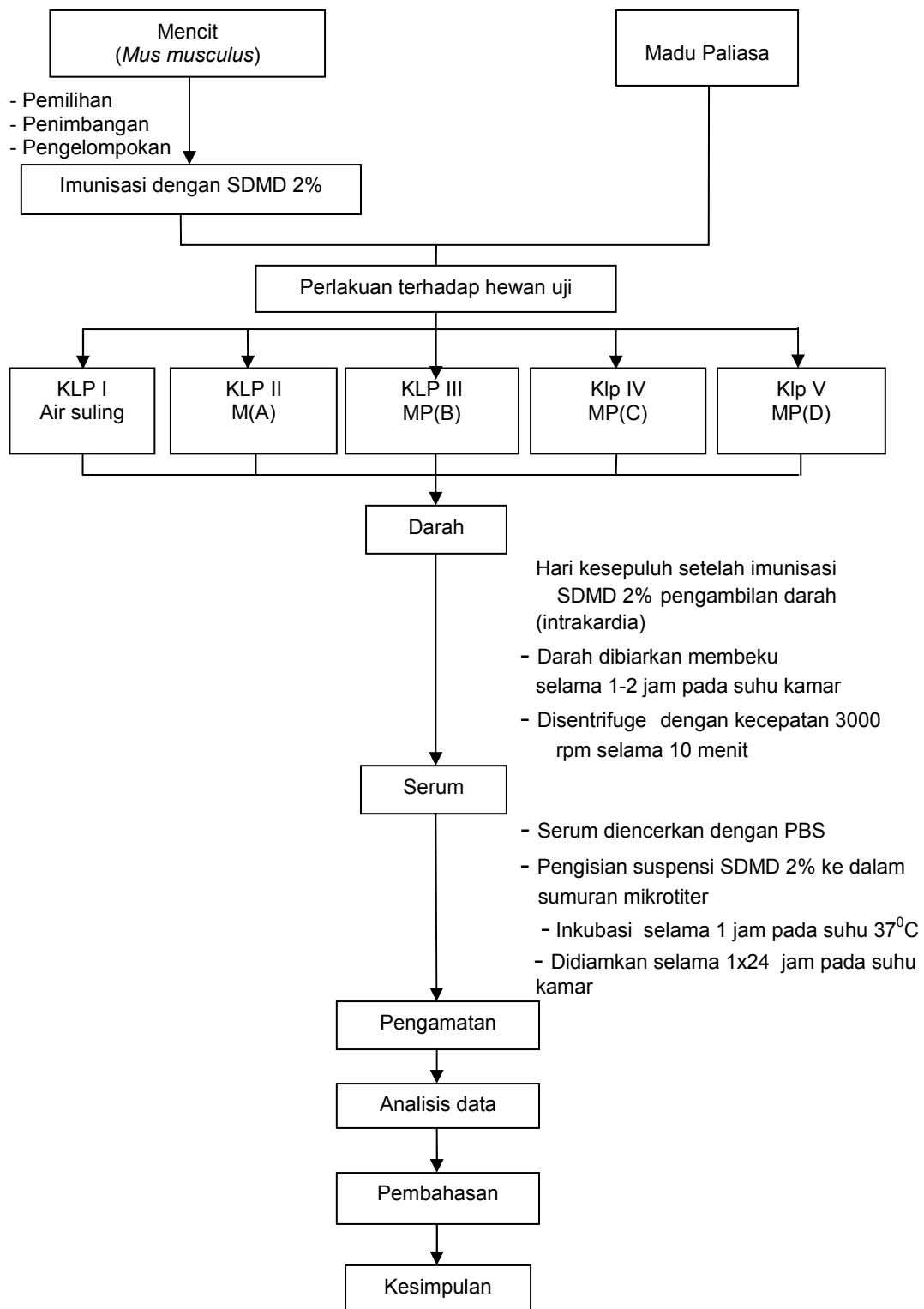
12. Kartesz, J. *Kleinhovia hospita : Taxonomy and Nomenclature. Biota of North America Project (BONAP)*. University of North Carolina. 2006 (Accessed 16 february 2013). Available from www.mercury.ornl/metadata/nbii/sgml
13. Steenis, C.G. *Flora Untuk Sekolah di Indonesia. Cetakan X*. PT.Pradnya Paramita. Jakarta. 2005. Hal. 289
14. Backer, C. A. *Flora of Java. Volume II*. N. V. P. Noorhoof Groningen. The Netherlands. 1965. 410-7
15. Dewan Standardisasi Nasional. SNI 01-3545-2004: *Madu*. Dewan Standardisasi Nasional. Jakarta. 2004
16. Sihombing, DTH. *Ilmu Ternak Lebah Madu*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 2005
17. Sarwono, B. *Kiat Mengatasi Permasalahan Praktis Lebah Madu*. Cetakan Pertama. PT. Agro Media Pustaka. Jakarta. 2001
18. White, J.W. Jr. 1979. *Composition of honey*. In: *Honey : a Comprehensive Survey*. E. Crane (Editor). Heinemann, London
19. Sumoprastowo, R & R. A Suprpto. 1980. *Beternak Lebah Madu Modern*. BharataKarya Aksara, Jakarta.
20. Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pengolahan Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
21. Winarno, F. G. *Madu : Teknologi, Khasiat dan Analisa*. Ghalia Indonesia Jakarta. 1982.
22. White, W. 1992. *Honey*. In: *The Hive and The Honey Bee*. Dadant and Sons. Hamilton, Illinois
23. Gojmerac, W.L. *Bees, Beekeeping, Honey, and Pollintion*. The AVI Publishing Co. Westport, Connecticut. 1983
24. Rosita. 2007. *Berkat Madu*. Penerbit Qanita. Bandung
25. Bajry HA. *Khasiat Madu Untuk Kesehatan* // <http://www.id.shvoong.com/Medicine-and-health/2044418/khasiat-madu-untuk-kesehatan>. Diakses Tanggal 19 November 2012

26. Baratawidjaja KG. *Imunologi Dasar*. Ed VII. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2006. Hal.75-76
27. Kresno SB. *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium* Ed IV. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 2001. Hal. 4-5, 11-12, 44-47, 53-54, 406-409
28. Roit, I. *Imunology : Essential Immunology*. Edisi 6. Widya Medika. Jakarta. 2003. Hal. 2-4
29. Clancy, J. *Basic Concept in Immunology*. Mc Graw-Hill Companies Singapore. 2000. 19, 26
30. Rose, N., Milgrom, F., Van Oss, J. C. *Principle of Immunology*. Muiacmilan Publishing Co. New York. 1973. 122-125
31. Bellanti, Joseph A. *Imunologi*. Edisi III. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 1993. Hal 97
32. Levinson, W. *Medical Microbiology and Immunology* . Medical Publishing Division. New York. 2001. 413
33. Winarno M. *Penelitian Aktivitas Biologik Infuse Benalu Teh (*Scurulla tropurpurea* BL.Danser) terhadap Aktivitas Sistem Imun Mencit*. [http : //www.kalbefarma.com/files/cdk/files/06](http://www.kalbefarma.com/files/cdk/files/06). Diakses tanggal 8 november 2012.
34. Malole MBM, & Pramono CSU. *Penggunaan Hewan–hewan Percobaan di Laboratorium*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antara, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 1989.
35. Anderson, D.P.,1992. *Disease of Fishes*. Book 12 : Fish Immunology. Ed. By S.F. Snieszko dan H.R. Axelrod, TFH. Pub., Neptune City
36. Anastesius, F. *Efek Hepatogeneratif Madu Paliasa Terhadap Perbaikan Fungsi Hati dan Gambaran Histologi Hati Tikus (*Rattus norvegicus*)*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar. 2012
37. Prisca, T. *Ui Efek Hepatogeneratif Madu Paliasa Berdasarkan Kadar SGPT dan SGOT Terhadap Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar. 2012

38. Irmayani. *Uji Aktivitas Antibakteri Madu Paliasa Terhadap Beberapa Bakteri Uji. Skripsi.* Fakultas Farmasi. Universitas Hasanuddin Makassar. 2012
39. Saleh, S. *Statistik Induktif.* Edisi Kedua. Liberty. Yogyakarta. 1988

LAMPIRAN I

**Skema Kerja Efek Pemberian Madu Paliasa Terhadap Aktivitas
Imunoglobulin G Pada Mencit (*Mus musculus*)**



LAMPIRAN II

Analisis statistik rasio aktivitas IgG setelah pemberian madu paliasa menggunakan rancangan acak lengkap dan uji Duncan

Table 4. Data titer IgG setelah ditransformasi dengan $(2 \log \text{ titer}) + 1$

No.	Perlakuan	Ulangan			total	Rata-rata
		1	2	3		
1	Kotrol (air suling)	0,81	0,81	0,81	2,43	0,81
2	M(A)	2,01	2,01	1,41	5,43	1,81
3	MP(B)	3,82	3,21	3,82	10,85	3,62
4	MP(C)	3,21	3,21	3,21	9,63	3,21
5	MP(D)	1,41	1,41	2,01	4,83	1,61
Total		11,26	10,65	11,26	33,17	11,06

Analisis Sidik Ragam (ASR)

A. Sumber Keragaman

Sumber Keragaman adalah :

1. Perlakuan (P)
2. Kesalahan/Galat (G)
3. Total Percobaan (T)

B. Perhitungan Derajat Bebas (Db)

1. $DbT = (r.t) - 1 = (3 \times 5) - 1 = 14$
2. $DbP = t - 1 = 5 - 1 = 4$
3. $DbG = DbT - DbP - DbK = 14 - 4 = 10$

C. Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

1. Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{T_{ij}^2}{r \cdot t} = \frac{(33,17)^2}{3 \times 5} = 73,35$$

2. Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$\begin{aligned} JKT &= T(Y_{ij}^2) - FK \\ &= (0,81^2 + 2,01^2 + 3,82^2 + \dots + 2,01^2) - 73,35 \\ &= 99,03 - 73,35 \\ &= 25,68 \end{aligned}$$

3. Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{TP^2}{r} - FK \\ &= \frac{(2,43^2 + 2^2 + 5,43^2 + 10,85^2 + 9,63^2 + 4,83^2)}{3} - FK \\ &= \frac{269,18}{3} - 73,35 \\ &= 16,3 \end{aligned}$$

4. Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$\begin{aligned} JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 25,68 - 16,38 \\ &= 9,3 \end{aligned}$$

D. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

1. Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$KTP = \frac{JKP}{DbP} = \frac{16,38}{4} = 4,09$$

2. Kuadrat Tengah Galat (KTG)

$$KTG = \frac{JKG}{DbG} = \frac{9,3}{10} = 0,93$$

E. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$F_{hP} = \frac{KTP}{KTG} = \frac{4,09}{0,93} = 4,39$$

Tabel 5. Tabel Anava

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel		Ket.
					5 %	1 %	
Perlakuan	4	16,38	4,09	4,39*	3,48	5,98	S
Galat	10	9,3	0,93				
Total	14	25,68					

Ket : F Hitung > F Tabel 5% = Signifikan

Koefisien Keragaman

$$KK = \frac{\sqrt{KTG}}{\bar{\gamma}} \times 100\% = \frac{\sqrt{0,93}}{2,21} \times 100\% \\ = 43,44\%$$

Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND)

$$JNTD_{\alpha} = P_{\alpha(p.v)} \cdot S_{\bar{\gamma}} \\ S_{\bar{\gamma}} = \sqrt{\frac{KTG}{replikasi}} = \sqrt{\frac{0,93}{3}} \\ = 0,56$$

Tabel 6. Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND)

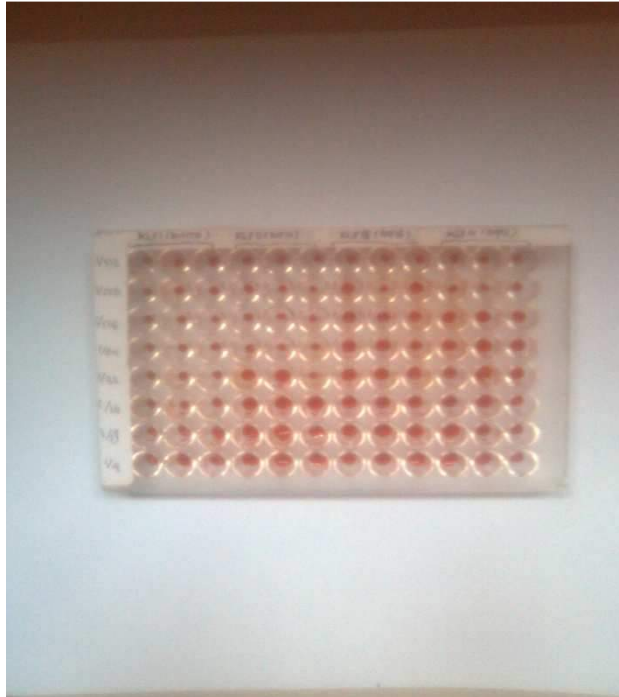
Perlakuan	Rata-rata	beda nyata pada jarak p =			
		2	3	4	5
Kontrol (air suling)	0,81	-			
M(A)	1,61	0,8	-		
MP(B)	1,81	0,2	1	-	
MP(C)	3,21	1,4	1,6	2,4*	-
MP(D)	3,62	0,41	1,81	2,01*	2,81**
P0,05		3,15	3,30	3,37	3,43
P0,01		4,48	4,75	4,88	4,96
BJND 0,05	(p . s γ)	1,76	1,85	1,89	1,92
BJND 0,01		2,51	2,65	2,73	2,78

Keterangan :

** = Sangat Signifikan

* = Signifikan

LAMPIRAN III
FOTO & GAMBAR PENELITIAN



Gambar 3. Foto data titer IgG pada sumur mikrotitrasi



Gambar 4. Foto data titer IgG pada sumur mikrotitrasi

FOTO & GAMBAR PENELITIAN**Gambar 5. Foto inkubator****Gambar 6. Foto sentrifuge****Gambar 7. Foto Penginjeksian SDMD****Gambar 8. Foto Serum darah mencit**