

**EFEK EKSTRAK AIR
BUNGA KASUMBA TURATE (*Carthamus tinctorius* L.)
TERHADAP AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G
PADA MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN**

**NURHAYATI JAMAL
H511 05 913**



PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS HASANUDDIN	
Tgl. Terima	3-6-08
Aspek	farmasi
Bagian	159
Waktu	159
No. Jenda	
No. K	

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008**



**EFEK EKSTRAK AIR
BUNGA KASUMBA TURATE (*Carthamus tinctorius* L.)
TERHADAP AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G
PADA MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN**

SKRIPSI

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

**NURHAYATI JAMAL
H511 05 913**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008**

EFEK EKSTRAK AIR
BUNGA KASUMBA TURATE (*Carthamus tinctorius* L.)
TERHADAP AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G
PADA MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN

NURHAYATI JAMAL

H511 05 913

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt
NIP. 131 876 917

Pembimbing Pertama,



Usmar, S.Si., M.Si., Apt
NIP. 132 166 480

Pembimbing Kedua,



Dra. Rahmawati Syukur, M.Si., Apt
NIP. 132 012 988

Pada tanggal 13 Mei 2008

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang efek ekstrak air bunga kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) terhadap aktivitas imunoglobulin G pada mencit jantan, dengan tujuan untuk melihat pengaruh ekstrak tersebut terhadap aktivitas imunoglobulin G dengan metode hemaglutinasi. Ekstrak air diperoleh dengan metode infundasi. Infus yang diperoleh diuapkan hingga kering dengan *freeze dryer*. Mencit dibagi ke dalam 3 kelompok yang masing-masing terdiri dari 3 ekor, lalu masing-masing diberi antigen berupa SDMD 2 % secara intraperitoneal. Setelah diinduksi, selama 5 hari berturut-turut, tiap kelompok diberi larutan ekstrak menurut konsentrasi yang telah disiapkan, yaitu 0,25 % (dosis 83,33 mg/kg BB), 0,5 % (dosis 166,67 mg/kg BB), dan 0,75 % (dosis 250 mg/kg BB), untuk menginduksi peningkatan kadar imunoglobulin G. Pengamatan dilakukan setelah 10 hari induksi dengan menghitung nilai titer pengenceran tertinggi. Analisis statistika dengan rancangan acak lengkap (RAL) menunjukkan bahwa ekstrak air bunga kasumba turate dengan konsentrasi 0,5 % b/v dapat meningkatkan aktivitas IgG pada mencit lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi 0,25 % b/v dan 0,75 % b/v.

Kata kunci : Bunga kasumba turate, Imunoglobulin G, Hemaglutinasi, Mencit, SDMD.

ABSTRACT

A research dealing with the effect of aqueous extract of *Carthamus tinctorius* flowers on immunoglobulin G activity had been conducted in male mice, with the aim to see the extent of the effect of the extract on immunoglobulin G activity by hemagglutination method. The extract obtained by infundation method was dried in freeze dryer. Mice were divided into three groups consisted of three mice each, then were intraperitoneally given 2 % sheep red blood cells as antigen. After induced, for five days respectively, each group was given extract solution in related concentration, i.e. 0.25% (as dose of 83.33 mg/kg), 0.5 % (166.67 mg/kg), and 0.75 % (250 mg/kg), to induce immunoglobulin G level. Observations were conducted after 10 days induction by determining the highest titer of dilution. Statistical analysis with completely randomized design indicate that the aqueous extract of *Carthamus tinctorius* flowers in concentration of 0.5% capable to increase the IgG level more than the effect of 0.25 % and 0.75 % solution.

Key word : Carthamus flowers, IgG, Hemagglutination, Mice, Sheep Red Blood Cell.

UCAPAN TERIMA KASIH

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah, syukur tak terhingga ke hadirat Allah SWT Pemilik Alam Semesta, Yang Maha Mengetahui, Sang Penguasa ilmu, Ya Allah Sembah Sujudku Pada-Mu, jangan Kau palingkan aku Dari-Mu. Shalawat dan salam semoga tetap tercurah kepada tauladanku Nabi Besar Muhammad SAW dan keluarganya serta sahabat-sahabat beliau yang mengajarkan iman, islam dan ilmu sehingga dunia terterangi olehnya.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat dalam mencapai gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi dalam penyusunan skripsi ini. 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 Bapak Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt selaku pembimbing utama, Bapak Usmar S.Si., M.Si., Apt, selaku pembimbing pertama dan Ibu Dra. Rahmawati Syukur, M.Si., Apt selaku pembimbing kedua atas keikhlasan meluangkan waktu, terima kasih saran, perhatian dan nasihatnya. Ibu Mufidah, S.Si., M.Si., Apt Selaku Pembimbing Akademik yang selalu membimbing dan mengarahkan selama proses studi penulis.

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
II.1 Uraian Tanaman Bunga Kasumba Turate	3
II.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	3
II.1.2 Nama Lain.....	3
II.1.2 Morfologi Tanaman.....	4
II.1.3 Kandungan Kimia	5
II.1.4 Kegunaan	6
II.2 Uraian Sistem Pertahanan Tubuh	6
II.2.1 Definisi	6
II.2.2 Klasifikasi.....	7
II.3 Antibodi	14

II.3.1	Imunoglobulin	14
II.3.2	Struktur dan Klasifikasi Imunoglobulin	15
II.3.3	Fungsi Imunoglobulin	16
II.3.4	Pembentukan Antibodi.....	16
II.4	Imunoglobulin G (IgG)	17
II.4.1	Struktur Imunoglobulin G.....	17
II.4.2	Sifat Fisikokimia.....	19
II.4.3	Aktivitas Biologi dan Immunologi	19
II.5	Antigen	20
II.6	Teknik Immunokimia	21
II.6.1	Imunopresipitasi	21
II.6.2	Aglutinasia	21
II.6.3	Hemaglutinasi Pasif	22
II.7	Ekstrak dan Ekstraksi	23
II.7.1	Definisi Ekstrak dan Ekstraksi	23
II.7.2	Infundasi	24
BAB III	PELAKSANAAN PENELITIAN	26
III.1	Alat dan Bahan yang digunakan	26
III.2	Penyiapan Sampel Penelitian	26
III.2.1	Pengambilan Sampel	26
III.2.2	Ekstraksi Sampel	26
III.2.3	Pembuatan Larutan Uji.....	27
III.3	Pengujian Aktivitas IgG pada Hewan Uji	27

III.3.1 Penyiapan Suspensi Sel Darah Merah Domba 2 %	27
III.3.2 Penyiapan Phospat Buffered Saline (PBS).....	28
III.3.3 Pemilihan Hewan Uji	28
III.3.4 Perlakuan Terhadap Hewan Uji	28
III.3.5 Pengambilan Sel Darah Merah Uji	29
III.3.6 Uji Hemaglutinasi	29
III.4 Pengumpulan dan Analisa Data	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
IV.1 Hasil Penelitian	31
IV.2 Pembahasan	32
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	36
V.1 Kesimpulan	36
V.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
Lampiran	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Titer Imunoglobulin G (IgG) pada sumur mikrotitrasi dengan interpretasi hasil berdasarkan hemaglutinasi setelah pemberian ekstrak air bunga kasumba turate dibandingkan dengan kontrol	31
2. Titer Imunoglobulin G (IgG) pada mencit jantan 10 hari setelah diberikan SDMD 2 %.....	32
3. Data titer imuoglobulin G (IgG) setelah ditransformasi dengan $[2\log (\text{titer})]+1$	42
4. Hasil analisis sidik ragam (ASR) perlakuan terhadap rasio perubahan aktivitas Imunoglobulin G (IgG)	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Unit dasar antibodi yang terdiri atas 2 rantai berat dan 2 rantai ringan.....	15
2. Struktur Immunoglobulin G	18
3. Foto data titer Immunoglobulin G (IgG) pada sumur mikrotitrasi..	47
4. Tanamaan kasumba turate.....	48
5. Pemberian secara oral pada mencit (<i>Mus musculus</i>)	49
6. Domba sumber antigen sel darah merah domba (SDMD)	49
7. Sel darah merah domba (SDMD).....	49
8. Imunisasi antigen SDMD secara intraperitoneal pada mencit (<i>Mus musculus</i>)	50
9. Pengambilan darah mencit secara intrakardial pada mencit (<i>Mus musculus</i>)	50
10. Penambahan antigen (SDMD) ke dalam sumur yang berisi PBS dan serum darah mencit	50
11. Alat Sentrifuge (<i>Hettich</i>).....	51
12. Alat "Shaker"	51
13. Alat Inkubator.....	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja.....	39
2. Perhitungan Dosis.....	40
3. Perhitungan Statistika Data Aktivitas Immunoglobulin G (IgG) mencit jantan pada pemberian ekstrak air bunga kasumba turate berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL).....	42
4. Gambar dan foto hasil penelitian	47

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti
ADCC	Antibody Dependent Cell Mediated Cytotoxicity
CRP	C Reactive Protein
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetat
Fab	Antigene Binding Fraction (Fraksi pengikat antigen)
Fc	Crystallyzable Fraction (Fraksi terkristalisasi)
Ig	Imunoglobulin
IFN	Interferon
IL	Interleukin
LPS	Lipopolisakarida
MBL	Mannan Binding Lectin
MHC	Major Histocompability Complex
NK	Natural Killer
PBS	Phosphate Buffered Saline
SDMD	Sel Darah Merah Domba
TNF	Tumor Necrosis Factor

BAB I PENDAHULUAN

Sejalan dengan budaya untuk kembali ke alam (back to nature) menyebabkan meningkatnya kesadaran masyarakat akan bahaya bahan-bahan kimia yang terkandung dalam obat-obat sintesis. Saat ini, masyarakat mulai beralih ke pengobatan dengan bahan-bahan alami. Kesadaran ini makin membuka mata betapa penting dan bernilainya obat-obat dari bahan alam (1). Salah satu obat tradisional yang mulai banyak digunakan oleh masyarakat adalah kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.).

Mahkota bunga kasumba turate (*Carthamus tinctorius* Linn.) dari suku Asteraceae dikenal sebagai bahan pewarna makanan, bahan tambahan kosmetik dan untuk pengobatan. Tanaman ini dapat digunakan untuk penyumbatan pembuluh darah di otak, rematik, bronkhitis, penyakit jantung, pembengkakan karena trauma dan memperkuat sirkulasi darah dan hati (2). Tanaman ini juga secara empiris digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan penyakit campak (3). Namun belum banyak penelitian yang membuktikan akan hal tersebut.

Penyebab penyakit campak adalah virus campak atau morbili. Penyakit ini biasanya dijumpai pada anak-anak dan ditularkan dari orang ke orang melalui percikan liur (droplet) yang terhirup. Masa inkubasi asimptomatiknya adalah 7 sampai 12 hari sebelum penyakit muncul. Penyakit ini sangat menular. Penyakit aktif ditandai oleh gejala-gejala awal

(prodromal) yang diikuti oleh ruam. Gejala prodromal mencakup demam tinggi, batuk menyalak, pilek, dan pembesaran kelenjar getah bening. Infeksi aktif ditandai oleh bercak koplik (yaitu titik putih yang dikelilingi oleh cincin kemerahan) di mukosa pipi (bukal) dan suatu ruam makulopapular disertai eritema pada sekitar hari ketiga atau keempat. Ruam berawal di wajah, menyebar ke badan dan akhirnya ekstremitas. Ruam biasanya menetap sekitar empat hari (4). Sebelumnya dilaporkan bahwa ekstrak etanol bunga kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) dapat meningkatkan aktivitas IgG pada mencit (*Mus musculus*) jantan (5).

Berdasarkan penggunaan di masyarakat yang pada umumnya melarutkan bunga tanaman ini dengan air, maka perlu dilakukan penelitian tentang efek ekstrak air bunga tanaman ini terhadap aktivitas imunoglobulin G (IgG) mencit jantan. Permasalahan yang timbul adalah apakah ekstrak air bunga tanaman ini dapat meningkatkan aktivitas IgG. Maksud dan tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dan melihat apakah ekstrak air bunga tanaman ini juga berefek terhadap aktivitas IgG mencit jantan dengan menggunakan metode uji hemaglutinasi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman Kasumba Turate

II.1.1 Klasifikasi Tanaman (2,6)

- Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Bangsa : Asterales
Suku : Asteraceae
Marga : *Carthamus*
Jenis : *Carthamus tinctorius* L.

II.1.2 Nama Lain (2,6,7)

- Umum : Kembang pulu, kesumba
Sumatera (Melayu) : Kasumba, kesumba
Madura : kasombha
Jawa : Kembang pulu
Sulawesi (Bugis) : Ralle
Makassar : Kasumba turate
Afghanistan : Muswar, maswarah, kajireh, kariza
Arabia : Qurtun, Gurtum, Osfur, Asper
China : Chuan safflower
Perancis : Le carthame
Jerman : Saflor

India	: Jafran
Italia	: Cartama
Inggris	: Safflower
Pilipina	: Kasubha
Tahiland	: Kham
Vietnam	: H(oof)ng hoa

II.1.3 Morfologi Tanaman (2)

Tegak lurus bercabang banyak, tanaman menahun, tingginya 30-180 cm. Sistem akar terbentuk dengan baik, berwarna coklat kehijauan, akar tebal dan gemuk, menusuk sampai 3 m ke dalam tanah, cabang sampingnya tipis mendatar, sebagian besar terdapat di atas 30 cm. Tangkai berbentuk silinder, padat dengan intisari lunak, berkayu di dekat pangkal. Daun tersusun secara spiral dengan ukuran 4-20 cm x 1-5 cm. Tepi daun berduri-bergerigi, berwarna hijau gelap mengkilap dan berbentuk herba ketika masih muda, berubah menjadi keras dan kaku setelah tua. Bagian kepala terletak di ujung berbentuk jambangan besar, panjang sekitar 4 cm dan diameter 2,5-4 cm, hanya mengandung bunga-bunga tunggal. Memiliki banyak kelopak involukral, tersusun spiral, bagian luar membujur dan menyempit di atas bagian dasar, 3-7 cm x 0,5-1,6 cm. Bagian atas seperti daun dan spinescent, tegak atau menyebar, tidak terkatup, dengan rambut panjang pada tepi bawah, berwarna hijau lebih muda daripada daun, bagian bawah terkatup, berwarna putih kehijauan, berambut panjang pada bagian luar, khususnya pada tepi, sedangkan

pada bagian dalam glabrous; disekitar bagian tengah kepala, kontriksinya menjadi kurang jelas dan bagian yang seperti daun menjadi tidak nampak; kelopak yang paling dalam berbentuk lanset, 2-2,5 cm x 1-4 mm, ujung spinescent, ciliate. Dasar bunganya rata sampai berbentuk kerucut, banyak, tegak, berbulu putih dengan panjang 1-2 cm dan terdapat 20-80 bunga tunggal berkelamin ganda, tubular, aktinomorf, panjangnya sekitar 4 cm glabrous, kebanyakan berwarna jingga kemerahan yang menjadi merah gelap saat mekar, kadang-kadang kuning; mahkotanya tersusun oleh 5 lobus, panjang tubular 18-22 mm, lobus menyebar, sedikit oblongata sampai linier, 7 mm x 1 mm; benang sari 5, epipetalous, tertanam pada bagian mulut, filamen 1-2 mm, anthers 5 mm, berkumpul, membentuk kolom; ovarium berbentuk elips, panjangnya 3,5-4,5 mm, satu sel, satu ovulet, bearing cakram pada bagian atas; penghalang tipis, panjang 28-30 mm, glabrous, mendesak mulut kolom serbuk sari, stigma panjangnya 5 mm, bifidus, kuning, dengan rambut pendek.

II.1.4 Kandungan Kimia (2,6)

Kasumba turate mengandung 2 kelompok besar pigmen yang larut dalam air, yaitu carthamidin kuning dan dye carthamin, yang berwarna orange-merah dan larut dalam larutan alkali. Bunganya mempunyai 0,3-0,6 % carthamin. Flavanoid, glikosida, sterol dan derivat serotonin telah diidentifikasi dari bunga dan biji.

II.1.5 Kegunaan (2,6)

Bunga kasumba turate dikenal sebagai bahan pewarna makanan, bahan tambahan kosmetik dan belum digunakan secara luas dalam pengobatan. Di Cina, bunganya digunakan untuk pengobatan pada penyakit seperti penyumbatan pembuluh darah di otak, sterilitas pada laki-laki, rematik dan bronkhitis, dan sebagai teh tonik untuk memperkuat sirkulasi darah dan hati. Pengobatan dengan kasumba turate juga menunjukkan efek yang bermanfaat pada sakit dan pembengkakan karena trauma. Beberapa laboratorium membuktikan kegunaan bunga kasumba turate antara lain untuk mengatasi masalah mensturasi, penyakit jantung, penyakit yang berhubungan dengan trauma. Kasumba turate juga biasanya digunakan oleh masyarakat di daerah Sulawesi Selatan sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit campak (morbili).

II.2 Uraian Sistem Pertahanan Tubuh

II.2.1 Definisi

Imunitas adalah resistensi terhadap penyakit terutama penyakit infeksi. Gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi disebut sistem imun. Reaksi yang dikoordinasi sel-sel, molekul-molekul terhadap mikroba dan bahan lainnya disebut respons imun. Sistem imun diperlukan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup (8,9).

Respons imunologik menjalankan 3 fungsi : pertahanan (*defense*), homeostatis dan pengawasan (*surveillance*). Fungsi pertama meliputi pertahanan tubuh terhadap infeksi mikroorganisme, fungsi kedua meliputi pemusnahan sel-sel yang tidak berguna dari komponen "self" dan fungsi ketiga meliputi kemampuan untuk menemukan dan menghancurkan sel mutan (10).

II.2.2 Klasifikasi

Pertahanan imun terdiri atas sistem imun alamiah atau nonspesifik (*natural/innate/native*) dan didapat atau spesifik (*adaptive/acquired*). Perbedaan utama antara kedua jenis respons imun itu adalah dalam hal spesifisitas dan pembentukan memori terhadap antigen tertentu pada respons imun spesifik yang tidak terdapat pada respons imun nonspesifik (imunologi : diagnosis). Respons imun spesifik tergantung pada adanya pemaparan benda asing, dan pengenalan selanjutnya dan kemudian reaksi terhadapnya. Sebaliknya respons nonspesifik ini tidak tergantung pada pengenalan spesifik (8,10).

1. Respon imun nonspesifik (*natural/ innate/ native*)

Mekanisme fisiologik imunitas nonspesifik berupa komponen normal tubuh yang selalu ditemukan pada individu sehat dan siap mencegah mikroba masuk tubuh dan dengan cepat menyingkirkan mikroba tersebut. Jumlahnya dapat ditingkatkan oleh infeksi, misalnya jumlah sel darah putih meningkat selama fase akut pada banyak penyakit. Disebut nonspesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroba

tertentu, telah ada dan siap berfungsi sejak lahir. Mekanismenya tidak menunjukkan spesifisitas terhadap bahan asing dan mampu melindungi tubuh terhadap banyak patogen potensial. Sistem tersebut merupakan pertahanan terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroba dan dapat memberikan respon langsung (8).

Sistem imun nonspesifik terdiri atas 3 komponen yaitu : (8)

a. Pertahanan fisik/ mekanik

Dalam sistem pertahanan fisik atau mekanik, kulit, selaput lendir, silia saluran napas, batuk dan bersin merupakan garis pertahanan terdepan terhadap infeksi. Keratinosit dan lapisan epidermis kulit sehat dan epitel mukosa yang utuh tidak dapat ditembus kebanyakan mikroba. Kulit yang rusak akibat luka bakar dan selaput lendir saluran napas yang rusak oleh asap rokok akan meningkatkan resiko infeksi.

b. Pertahanan biokimia

Kebanyakan mikroba tidak dapat menembus kulit yang sehat, namun beberapa yang dapat masuk tubuh melalui kelenjar sebaceous dan folikel rambut. pH asam keringat dan sekresi sebaceous, berbagai asam lemak yang dilepas kulit mempunyai efek denaturasi terhadap protein membran sel sehingga dapat mencegah infeksi yang terjadi melalui kulit. Lizosim dalam keringat, ludah, air mata dan air susu ibu, melindungi tubuh terhadap berbagai kuman gram positif oleh karena itu dapat meng-

hancurkan lapisan peptidoglikan dinding bakteri. Asam hidroklorida dalam lambung, enzim proteolitik, antibodi dan empedu dalam usus halus membantu menciptakan lingkungan yang dapat mencegah infeksi banyak mikroba. Bahan yang disekresi mukosa saluran napas (enzim dan antibodi) dan telinga berperan pula dalam pertahanan tubuh secara biokimia.

c. Pertahanan humoral

Berbagai bahan dalam sirkulasi seperti komplemen, interferon, CRP dan kolektin berperan dalam pertahanan humoral. Serum yang normal dapat memusnahkan dan menghancurkan beberapa bakteri gram negatif. Hal itu disebabkan adanya kerja sama antara antibodi dan komplemen, keduanya ditemukan dalam serum normal.

1. Komplemen

Komplemen berperan sebagai opsonin yang meningkatkan fagositosis, sebagai faktor kemotaktik dan juga menimbulkan destruksi/lisis bakteri dan parasit.

2. Interferon

Interferon dapat menginduksi sel-sel sekitar sel yang terinfeksi virus menjadi resisten terhadap virus. IFN dapat juga mengaktifkan sel NK.

3. Protein fase akut

Selama terjadi infeksi, produk bakteri seperti LPS mengaktifkan makrofag dan sel lain untuk melepas berbagai sitokin seperti IL-1 yang merupakan pirogen endogen, TNF dan IL-6. Sitokin-sitokin tersebut merangsang hati untuk mensintesis dan melepas sejumlah protein plasma yang disebut protein fase akut seperti CRP yang dapat meningkat 1000 kali, MBL dan komponen amiloid P serum.

4. Kolektin

Protein yang berfungsi sebagai opsonin yang dapat mengikat hidrat arang pada permukaan kuman.

d. Pertahanan selular

Fagosit, makrofag dan sel NK berperan dalam sistem imun nonspesifik selular.

1. Fagosit

Berperan sebagai sel yang menangkap antigen, mengolah dan selanjutnya mempresentasikannya kepada sel T.

2. Makrofag

Melepas berbagai bahan, antara lain lisozim, komplemen, interferon dan sitokin yang semuanya memberikan kontribusi dalam pertahanan nonspesifik dan spesifik.



3. Sel NK

Berfungsi dalam imunitas nonspesifik terhadap virus dan sel tumor.

4. Sel mast

Sel mast berperan dalam reaksi alergi dan juga dalam pertahanan pejamu. Juga berperan pada imunitas terhadap parasit dalam usus dan terhadap invasi bakteri.

2. Sistem Imun Spesifik

Sistem imun spesifik ini berbeda dengan sistem imun nonspesifik. Sistem imun ini mempunyai kemampuan dalam mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Senyawa asing yang pertama kali muncul dalam tubuh segera dikenal oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitasi sel-sel imun tersebut. Bila suatu saat senyawa asing yang sama masuk atau terpapar kembali maka tubuh akan lebih cepat mengenal dan kemudian menghancurkannya (11).

Oleh karena sistem tersebut hanya dapat menyingkirkan benda asing yang sudah dikenal sebelumnya, maka sistem ini disebut spesifik. Untuk menghancurkan benda asing yang berbahaya bagi tubuh, sistem imun spesifik dapat bekerja tanpa bantuan sistem imun nonspesifik. Pada umumnya terjalin kerjasama yang baik antara antibodi-komplemen-fagosit dan antara sel T makrofag. Imunitas didapat seringkali mampu memberikan perlindungan yang kuat. Ini

merupakan alasan mengapa suatu proses vaksinasi sangat penting dalam melindungi manusia terhadap penyakit dan toksin (11,12).

Respon imun spesifik dibagi dalam 3 golongan, yaitu (8):

a. Respon imun seluler

Banyak mikroorganisme yang hidup dan berkembang biak intraseluler, antara lain dalam makrofag sehingga sulit dijangkau oleh antibodi. Untuk melawan mikroorganisme intraseluler itu diperlukan respon imun seluler yang merupakan fungsi limfosit T. Sub populasi sel T yang disebut sel T penolong (*helper T cell*) akan mengenali mikroorganisme atau antigen bersangkutan melalui MHC (*major histocompatibility complex*) kelas II yang terdapat pada permukaan sel makrofag. Sinyal ini menginduksi limfosit untuk memproduksi berbagai jenis limfokin, termasuk diantaranya interferon, yang dapat membantu makrofag menghancurkan mikroorganisme intrasel yang disajikan melalui MHC kelas I secara langsung (*cell to cell*). Sel T-sitotoksik (*cytotoxic T cell*) juga menghasilkan gamma interferon yang mencegah penyebaran mikroorganisme ke dalam sel lain.

b. Respon imun humoral

Respon ini diawali dengan diferensiasi limfosit B menjadi satu populasi (klon) sel plasma yang memproduksi dan melepaskan antibodi spesifik ke dalam darah. Juga pada respon humoral berlaku respon primer yang membentuk klon sel B memori. Setiap klon limfosit diprogramkan untuk memproduksi satu jenis antibodi spesifik

terhadap antigen tertentu (*clonal selection*). Antibodi ini berikatan dengan antigen membentuk kompleks antigen-antibodi yang dapat mengaktivasi komplemen dan mengakibatkan hancurnya antigen tersebut. Supaya limfosit B berdiferensiasi dan membentuk antibodi diperlukan bantuan limfosit T-penolong yang atas sinyal-sinyal tertentu baik melalui MHC maupun sinyal yang dilepaskan oleh makrofag, merangsang produksi antibodi. Selain oleh sel T-penolong, produksi antibodi juga diatur oleh sel T-penekan, sehingga produksi antibodi seimbang dan sesuai dengan yang dibutuhkan.

c. Interaksi antara respon imun seluler dengan humoral

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 (*natural killer*) 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.

Sistem imun nonspesifik dan sistem imun spesifik berinteraksi dalam menghadapi infeksi. Sistem imun nonspesifik bekerja dengan cepat dan sering diperlukan untuk merangsang sistem imun spesifik. Mikroba ekstraselular mengaktifkan komplemen melalui jalur lektin. Kompleks antigen-antibodi mengaktifkan komplemen melalui jalur

klasik. Virus intraselular merangsang sel yang diinfeksi 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.

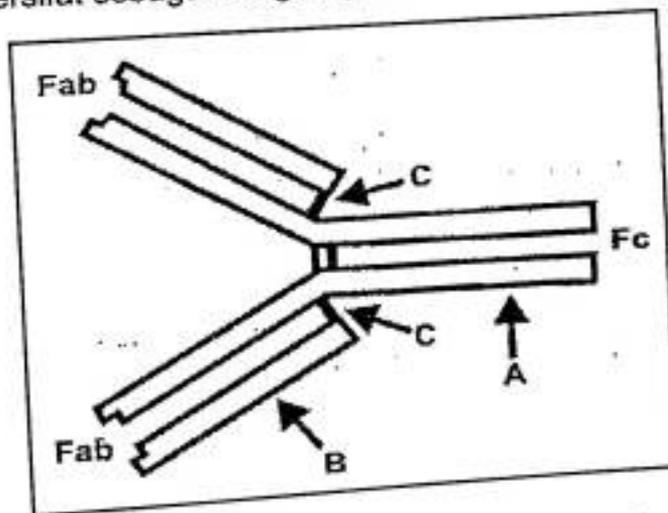
II.3 Antibodi

III.3.1 Immunoglobulin

Bila darah dibiarkan membeku akan meninggalkan serum yang mengandung berbagai bahan larut tanpa sel. Bahan tersebut mengandung molekul antibodi yang digolongkan dalam protein yang disebut globulin dan sekarang dikenal sebagai immunoglobulin. Immunoglobulin merupakan substansi pertama yang diidentifikasi sebagai molekul dalam serum yang mampu menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi. Immunoglobulin merupakan molekul glikoprotein yang dibentuk oleh sel B dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai reseptor permukaan untuk antigen dan sebagai antibodi yang disekresikan ke dalam cairan ekstraseluler. Antibodi yang disekresikan dapat berfungsi sebagai adaptor yang mengikat antigen melalui binding sites-nya yang spesifik. Antibodi yang terbentuk secara spesifik mengikat antigen baru lainnya yang sejenis (8,13).

II.3.2 Struktur dan Klasifikasi Immunoglobulin

Struktur dasar immunoglobulin terdiri atas 2 rantai berat (*H-chain*) yang identik dan 2 rantai ringan (*L-chain*) yang juga identik (Gambar 1). Setiap rantai ringan terikat pada rantai berat melalui ikatan disulfida (S-S), demikian pula rantai berat satu dengan yang lain diikat dengan ikatan S-S. Molekul ini oleh enzim proteolitik papain dapat dipecah menjadi 3 fragmen, yaitu 2 fragmen yang mempunyai susunan sama terdiri atas rantai berat (H) dan rantai ringan (L) disebut fragmen Fab (*Antigen-binding fragment*) dan 1 fragmen yang hanya terdiri atas rantai berat saja disebut fragmen Fc. Fragmen Fab dengan *antigen binding site*, berfungsi mengikat antigen, sebaliknya fragmen Fc merupakan fragmen yang konstan. Fragmen ini tidak mempunyai kemampuan mengikat antigen tetapi dapat bersifat sebagai antigen (*determinan antigen*) (13).



Gambar 1. Unit dasar antibodi yang terdiri atas 2 rantai berat dan 2 rantai ringan yang identik, diikat menjadi satu oleh ikatan disulfida yang dapat dipisah-pisah dalam berbagai fragmen, A = rantai berat (berat molekul : 50.000-77.000), B = rantai ringan (berat molekul : 25.000), C = ikatan disulfide (13).



Lima kelas utama imunoglobulin dalam serum manusia yaitu IgG, IgA, IgM, IgD dan IgE. Kelima imunoglobulin ini menunjukkan perbedaan pada rantai beratnya. Dimana IgG mempunyai rantai berat gama (γ), sedangkan IgM mempunyai rantai berat mu (μ), pada IgA rantai beratnya alfa (α), pada IgD rantai delta (δ) dan pada IgE rantai beratnya epsilon (ϵ). Disamping kelima kelas imunoglobulin, diketahui beberapa subkelas Ig, yaitu subkelas IgG : IgG1, IgG2, IgG3, dan IgG4, sedangkan IgA adalah IgA1 dan IgA2 dan subkelas IgD yaitu IgD1 dan IgD2. Subkelas imunoglobulin satu dengan lain berbeda dalam susunan asam amino dan berat molekul, dengan sifat biologiknya (13).

II.3.3 Fungsi Imunoglobulin

Beberapa keadaan, antibodi mengadakan fungsi proteksinya dengan menetralkan antigen secara langsung. Tetapi yang lebih sering adalah bahwa dalam melaksanakan fungsinya dibantu oleh sistem efektor lain, misalnya komplemen, fagosit dan sel sitotoksik. Disamping itu reseptor Fc yang terdapat pada beberapa subpopulasi sel T dan sel B diduga terlibat dalam pengaturan produksi berbagai isotip antibodi walaupun mekanismenya yang pasti belum diketahui (13).

II.3.4 Pembentukan Antibodi (13)

Bila antigen pertama kali masuk ke dalam tubuh, terjadilah respon imun primer yang ditandai dengan munculnya IgM beberapa hari setelah pemaparan. Saat antara pemaparan antigen dan munculnya IgM disebut *lag phase*. Kadar IgM mencapai puncaknya setelah kira-kira 7 hari. Enam

sampai tujuh hari setelah pemaparan, dalam serum mulai terdeteksi IgG, sedangkan IgM mulai berkurang sebelum kadar IgG mencapai puncaknya yaitu 10-14 hari setelah pemaparan antigen. Kadar antibodi kemudian berkurang dan umumnya hanya sedikit yang dapat dideteksi 4-5 minggu setelah pemaparan.

Bila pemaparan antigen terjadi dua kali, terjadi respon imun sekunder yang sering juga disebut respon anamnestic atau *booster*. Baik IgM ataupun IgG cepat meningkat secara nyata dengan *lag phase* yang pendek. Puncak kadar IgM pada respon sekunder ini umumnya tidak melebihi puncaknya pada respon primer, sebaliknya kadar IgG meningkat jauh lebih tinggi dan berlangsung lebih lama. Perbedaan tersebut disebabkan adanya sel B dan sel T memori akibat pemaparan yang pertama.

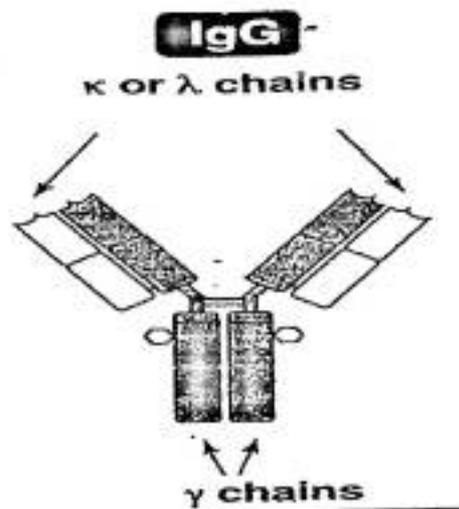
Sifat pengikatan antibodi dengan antigen juga berubah dengan waktu, yaitu afinitas antibodi terhadap antigen makin lama makin besar, dan kompleks antigen-antibodi yang terjadi juga makin lama makin stabil. Antibodi yang dibentuk makin poliklonal sehingga makin kurang spesifik, ini berarti makin besar kemungkinan terjadi reaksi silang.

II.4 Imunoglobulin G (IgG)

II.4.1 Struktur Imunoglobulin G

Struktur IgG sangat sederhana karena hanya terdiri atas 1 unit imunoglobulin saja. Berat molekul IgG juga lebih kecil dari pada IgM, yaitu $1,5 \cdot 10^5$ kD, walaupun lebih dua kali albumin, protein terbanyak di dalam

plasma. Antibodi kelas IgG mampu melakukan aglutinasi, presipitasi, mengaktifkan komplemen, mengikat diri ke sel fagosit sehingga juga bersifat opsonin (14)



Gambar 2. Struktur Immunoglobulin G (14)

Imunoglobulin G mempunyai struktur yang simetris. Suatu molekul IgG terdiri dari dua rantai H tipe gamma dan dua rantai L tipe K (kappa) dan tipe lamda. IgG memiliki struktur yang simetris : terdiri dari dua rantai berat (H), masing-masing dengan berat molekul ± 55.000 Dalton, yang berikatan satu sama lain oleh 2 atau lebih ikatan disulfida yang terletak ditengah. Bagian tengah dari masing-masing rantai H (puncak dari ujung aminoterminal), suatu rantai ringan (L) diikat pada suatu titik yang mendekati ujung karboksi terminalnya yaitu ikatan disulfida. Rantai L memiliki berat molekul ± 23.000 Dalton. Banyaknya perbedaan yang bervariasi dari antibodi spesifik IgG (dan semua imunoglobulin lainnya) disebabkan oleh variabilitas yang besar dari komposisi asam amino diantara molekul-molekul imunoglobulin yang berbeda dalam bagian

aminoterminal dari semua rantainya. Ujung karboksi terminal dari molekul imunoglobulin yang berbeda jauh lebih konstan komposisi asam aminonya. Dua bagian yang berbeda dari rantai imunoglobulin ini adalah bagian variabel (V) dan bagian konstan (C). Pada bagian variabel, ujung aminoterminal dibentuk oleh spesifisitas antibodi. Molekul imunoglobulin dari asam amino dari dua rantai H adalah identik satu dengan yang lain, begitu juga dengan dua rantai L nya. Jadi IgG bersifat divalen (15)

II.4.2 Sifat Fisikokimia

IgG merupakan komponen utama imunoglobulin serum, dengan berat molekul 160.000 dalton. Kadarnya dalam serum sekitar 13 mg/ml, merupakan 75% dari semua imunoglobulin. IgG ditemukan dalam berbagai cairan seperti darah, CSS dan juga urin (3). Dalam serum orang dewasa normal IgG sekitar 1,0 – 1,4 g/100 ml, dan 12 % - 18 % dari total serum protein. Laju sintesisnya sekitar 2,3 mg per hari untuk berat badan 70 kg), dan *half-lifeny* sekitar 23 hari. Range distribusi elektroforetiknya melalui area globulin gamma. Kandungan karbohidrat dari IgG sedikit rendah : 2,5%. Berat molekul IgG sekitar 160.000 Dalton dan koefisien sedimentasinya mendekati 7 S (16). Di antara semua kelas imunoglobulin, IgG paling mudah berdifusi ke dalam jaringan ekstrasvaskuler dan melakukan aktivitas antibodi di jaringan (13).

II.4.3 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 memiliki sifat opsonin yang efektif karena sel-sel fagosit, monosit dan makrofag mempunyai reseptor untuk fraksi Fc dari IgG (Fc γ -R) sehingga dapat mempererat hubungan antara fagosit dengan sel sasaran. IgG juga dapat berperan pada imunitas selular karena dapat merusak antigen sel melalui interaksi dengan sistem komplemen atau melalui efek sitolitik sel NK, eosinofil, neutrofil yang semuanya memiliki Fc γ -R) (8).

II.5 Antigen

Antigen adalah bahan yang dapat merangsang respons imun atau bahan yang dapat bereaksi dengan antibodi yang sudah ada yang disebut juga imunogen adalah bahan yang dapat merangsang respons imun atau bahan yang dapat bereaksi dengan antibodi yang sudah ada tanpa memperhatikan kemampuannya untuk merangsang produksi antibodi. Secara sederhana antigen didefinisikan sebagai substansi yang ketika dimasukkan secara parenteral ke dalam seekor binatang dapat menyebabkan produksi antibodi dari binatang tersebut dan akan bereaksi secara spesifik dengan antibodi yang dihasilkan. Karena kekebalan didapat tidak akan terjadi sampai adanya invasi yang pertama oleh organisme asing atau toksin, maka jelaslah tubuh harus mempunyai suatu mekanisme untuk mengenali invasi permulaan. Setiap toksin atau setiap macam organisme hampir selalu mengandung satu atau lebih senyawa kimiawi yang khas sehingga membuatnya berbeda dengan semua senyawa yang lain. Pada umumnya, semua senyawa tersebut adalah

protein-protein atau polisakarida besar dan senyawa inilah yang membentuk kekebalan didapat. Bahan-bahan ini disebut sebagai antigen (3,16,17).

II.6 Teknik Immunokimia

II.6.1 Immunopresipitasi

Teknik imunopresipitasi merupakan salah satu cara yang banyak dipakai untuk mengukur kadar antigen atau antibodi. Antibodi yang direaksikan dengan antigen spesifik membentuk kompleks yang tidak larut (presipitat) yang dapat diukur dengan berbagai cara. Reaksi presipitasi dapat dilangsungkan dalam media cair maupun media semi solid (gel) (13).

Perbandingan antigen dan antibodi merupakan faktor terpenting dalam reaksi presipitasi. Pembentukan presipitat terjadi apabila antara konsentrasi antigen dengan antibodi terjadi kesetimbangan. Kondisi antigen berlebihan akan mengakibatkan melarutnya kembali kompleks yang terbentuk, sedangkan antibodi berlebihan menyebabkan kompleks antigen-antibodi tetap ada dalam larutan (13).

II.6.2 Aglutinasi

Pengujian berdasarkan reaksi aglutinasi adalah metode serologik klasik untuk mendeteksi antigen atau antibodi. Umumnya aglutinasi terjadi bila antigen yang berbentuk partikel direaksikan dengan antibodi spesifik. Interaksi antara antigen dan antibodi dapat menimbulkan berbagai akibat

antara lain presipitasi (bila antigen merupakan bahan larut dalam cairan cairan garam fisiologik), aglutinasi (bila antigen merupakan bahan tidak larut/partikel-partikel kecil), netralisasi (toksin) dan aktivasi komplemen. Kebanyakan reaksi tersebut terjadi oleh adanya interaksi antara antigen multivalen dan antibodi yang sedikitnya memiliki 2 tempat ikatan per molekul (8, 13).

Titer antibodi adalah pengenceran tertinggi yang menunjukkan aglutinasi atau presipitasi. Untuk menentukan titer antibodi, dibuat pengenceran serial serum dan selanjutnya ditambahkan sejumlah antigen yang konstan dan campuran larutan tersebut diinkubasi dan diperiksa untuk aglutinasi/presipitasi (8).

Reaksi aglutinasi berlangsung dalam 2 tahap, yaitu pertama antibodi dengan salah satu reseptor pengikat antigen (*antigen binding sites*) bereaksi dengan antigen. Karena pada umumnya antibodi memiliki lebih dari satu reseptor pengikat antigen, maka pada tahap kedua dengan perantaraan reseptornya yang lain, antibodi bereaksi dengan molekul antigen lain yang mungkin sudah berikatan dengan salah satu molekul antibodi sehingga terbentuklah gumpalan antigen-antibodi (13,18,19).

II.6.3 Hemaglutinasi Pasif

Hemaglutinasi (HA) merupakan cara untuk menemukan antibodi atas dasar aglutinasi sel darah merah. Sebagai antigen dapat digunakan sel darah merah atau antigen yang mensensitasi sel darah merah bila antibodi dicampur dengan sel darah merah, aglutinasi terjadi segera (8).

Pada hemaglutinasi pasif, sel darah merah diaglutinasi oleh antibodi yang menyerang antigen yang telah digabungkan secara kimiawi pada permukaan sel darah merah. Jadi sel darah merah merupakan indikator nyata dari interaksi antigen-antibodi. Langkah pertama cara ini yaitu mensensitasi sel darah merah yaitu dengan menggabungkan antigen kedalamnya. Langkah terakhir yaitu dengan menambahkan sel darah merah yang telah disensitasi tadi ke dalam pengenceran bertingkat dari antibodi. Pengenceran tertinggi dari larutan yang masih menunjukkan aglutinasi didefinisikan sebagai titer dari antibodi (13,18,19).

II.7 Ekstrak dan Ekstraksi

II.7.1 Definisi Ekstrak dan Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (20).

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan dan termasuk biota laut. Sel tanaman dan hewan berbeda terutama ketebalannya sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksi zat aktif yang berada dalam sel tersebut (20).

Umumnya, zat aktif yang terkandung dalam tanaman maupun hewan lebih larut dalam pelarut organik. Proses terekstraksinya zat aktif dalam tanaman adalah pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan



terlarut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan pelarut organik diluar sel. Maka larutan terpekat akan berdifusi ke luar sel, dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi suatu keseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam sel dan di luar sel (21).

II.7.2 Infundasi (20)

Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu 90° selama 15 menit.

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati.

Cara ini sangat sederhana dan sering digunakan oleh perusahaan obat tradisional. Dengan beberapa modifikasi, cara ini sering digunakan untuk membuat ekstrak.

Infus dibuat dengan cara :

1. Membasahi bahan bakunya, biasanya dengan 2 kali bobot bahan, untuk bunga 4 kali bobot bahan dan untuk karagen 10 kali bobot bahan.
2. Bahan baku ditambah dengan air dan dipanaskan selama 15 menit pada suhu $90^{\circ} - 98^{\circ}$ C. Umumnya untuk 100 bagian sari diperlukan 10 bagian bahan.

Pada simplisia tertentu tidak diambil 10 bagian.

Hal ini disebabkan karena :

- a. kandungan simplisia kelarutannya terbatas, misalnya kulit kina digunakan 6 bagian.
 - b. Disesuaikan dengan cara penggunaannya dalam pengobatan, misalnya daun kumis kucing, sekali minum infus 100 cc, karena itu diambil $\frac{1}{2}$ bagian.
 - c. Berlendir, misalnya karagen digunakan $1 \frac{1}{2}$ bagian.
 - d. Daya kerjanya keras, misalnya digitalis digunakan $\frac{1}{2}$ bagian
3. Untuk memindahkan penyarian kadang-kadang perlu ditambah bahan kimia misalnya :
- a. asam sitrat untuk infus kina
 - b. kalium atau natrium karbonat untuk infus kelembek
4. Penyaringan dilakukan pada saat cairan masih panas, kecuali bahan yang mengandung bahan yang mudah menguap

Infus dibuat dengan cara mencampur simplisia dengan derajat halus yang sesuai dalam panci secukupnya, panaskan di atas tangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90° sambil sekali-kali diaduk. Serkai selagi panas melalui kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infus yang dikehendaki.

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan Yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan antara lain panci infundasi, pengering uap (*freeze dryer*), "shaker", sumur mikrotitrasi tipe V (*wheel plate*) 96 lubang, sentrifuge (*Hettich*), pipet mikron, termometer, timbangan analitik (*Dragon 303*), timbangan gram (*O'hauss*) dan timbangan hewan (*Denver*).

Bahan-bahan yang digunakan adalah kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.), air suling, darah merah domba, larutan PBS (*phosphate buffered saline*).

III.2 Penyiapan Sampel Penelitian

III.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel penelitian yang digunakan adalah bunga kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) segar, kemudian dikeringkan, diperoleh dari Kampung Waji-Waji, Desa Prajamaju, Kecamatan Dua Boccoe, Kabupaten Bone.

III.2.2 Ekstraksi Sampel (20)

Sebanyak 75 g sampel simplisia bunga kasumba turate dicampur dengan air suling 300 ml dalam panci infundasi dan direndam selama beberapa menit sambil sesekali diaduk. Kemudian ditambahkan air suling 750 ml, dipanaskan selama 15 menit, mulai dihitung ketika suhu dalam panci mencapai 90°C, sambil sekali-kali diaduk, lalu diangkat dan diserikai

selagi masih panas dengan kain flanel. Selanjutnya diuapkan dengan menggunakan pengering beku (*Freeze dryer*) sampai didapatkan ekstrak air yang kering. Ekstrak kering yang diperoleh disimpan dalam lemari pendingin.

III.2.3 Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji berupa ekstrak air kasumba turate dibuat dengan menambahkan air suling sebagai pembawa, dibuat dalam konsentrasi 0,25 % b/v (83,33 mg/kg BB); 0,5 % b/v (166,67 mg/kg BB), dan 0,75 % b/v (250 mg/kg BB). Cara pembuatan konsentrasi 0,25 % b/v (83,33 mg/ kg BB) adalah dengan menimbang ekstrak sebanyak 0,25 g kemudian dilarutkan dalam cawan petri, lalu ditambahkan air suling dalam labu tentukur 100,0 ml hingga tanda. Untuk membuat larutan ekstrak dengan konsentrasi 0,5 % b/v (166,67 mg/kg BB) dan 0,75 % b/v (250 mg/kg BB) dilakukan dengan cara yang sama dengan menimbang ekstrak masing-masing sebanyak 0,5 g dan 0,75 g. Larutan ekstrak dibuat segar setiap kali perlakuan.

III.3 Pengujian Aktivitas IgG pada Hewan Uji

III.3.1 Penyiapan Suspensi Sel Darah Merah Domba (SDMD) 2 % (22)

Darah domba ditampung dalam tabung bersih dan kering yang berisi larutan EDTA sebagai antikoagulan. Untuk 1 ml darah domba, diperlukan 1 mg larutan EDTA. SDMD dipisahkan dari plasmanya dengan sentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit. SDMD yang telah terpisah dicuci dengan menambahkan PBS dalam jumlah besar dan

tabung berisi suspensi tersebut dibolak-balik beberapa kali dan disentrifus kembali. Pencucian dilakukan paling sedikit 3 kali. Setelah pencucian selesai PBS dibuang sehingga diperoleh SDMD 100 %. Kemudian pada SDMD 100 % tersebut ditambahkan PBS dengan volume sama, hingga diperoleh suspensi SDMD 50 %. Antigen yang akan digunakan, disiapkan dengan mengencerkan 0,4 ml suspensi SDMD 50 % dengan 9,6 ml PBS, sehingga diperoleh 10 ml suspensi antigen (SDMD 2 % v/v).

III.3.2 Penyiapan Phospat Buffered Saline (PBS) (22)

Phospat buffered saline (PBS) disiapkan dengan cara terlebih dahulu membuat larutan A yaitu larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1,38 g/L dan NaCl 8,3 g/L dan larutan B yaitu larutan NaH_2PO_4 1,42 g/L dan NaCl 8,5 g/L. Selanjutnya 280 ml larutan A ditambahkan pada 720 ml larutan B untuk mendapatkan larutan PBS dengan pH 7,2.

III.3.3 Pemilihan Hewan Uji (23)

Hewan uji yang digunakan adalah 12 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan yang sehat dan aktivitas normal, dengan bobot badan antara 25-30 g. Hewan tersebut dibagi dalam 4 kelompok, tiap kelompok masing-masing 3 ekor yang akan diberi perlakuan yang berbeda-beda.

III.3.4 Perlakuan Terhadap Hewan Uji (24)

Mencit diimunisasi dengan suspensi sel darah merah domba (SDMD) 2 % dengan volume 0,1 ml secara intraperitoneal. Kemudian diberi sediaan uji yang berbeda dengan volume 1ml/30 mg bobot badan. Kelompok I diberi air suling, kelompok II diberi ekstrak kasumba turate

0,25 % b/v (83,33 mg/kg BB), kelompok III diberi ekstrak kasumba turate 0,5 % b/v (166,67 mg/kg BB), kelompok IV diberi ekstrak kasumba turate 0,75 % b/v (250 mg/kg BB). Pemberian diberikan secara oral setiap hari hingga hari kelima setelah imunisasi. Selanjutnya pada hari kesepuluh setelah imunisasi, darah mencit diambil secara intrakardial.

III.3.5 Pengambilan Sel Darah Merah Uji

Pada hari kesepuluh setelah imunisasi, darah diambil secara intrakardial lalu dibiarkan membeku atau menggumpal pada suhu kamar selama 1-2 jam yang selanjutnya disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dan diambil serumnya (supernatan).

III.3.6 Uji Hemaglutinasi (24)

Serum yang diperoleh selanjutnya diencerkan secara "double dilution" 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, dan 1/512 dengan PBS (*Phosphat Buffered Saline*). Dari masing-masing perbandingan ini dipipet sebanyak 50 μ l dan diletakkan pada 9 sumur piring mikrotiter (*well plate 96*) untuk tiap konsentrasi ekstrak air kasumba turate, setelah itu ditambahkan 50 μ l suspensi sel darah merah domba 2 % pada setiap sumur lalu dishaker selama 5 menit. Kemudian diinkubasi pada 37°C selama 60 menit dan didiamkan semalam pada suhu kamar. Dilakukan pengamatan pengenceran tertinggi dari setiap serum darah mencit jantan yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba.

III.4 Pengumpulan dan Analisis Data

Data dikumpulkan dari pengamatan pengenceran tertinggi serum darah mencit yang masih menunjukkan aglutinasi dari sel darah merah domba pada sumur mikrotitrasi, kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Hasil penguapan infus bunga kasumba turate sebanyak 75 g dengan pelarut air sebanyak 750 ml diperoleh 17,4652 g ekstrak air bunga kasumba turate. Berikut ini adalah data uji aktivitas imunoglobulin G setelah pemberian ekstrak air bunga kasumba turate 0,25% b/v (83,33 mg/kg BB); 0,5% b/v (166,67 mg/kg BB) dan 0,75 % b/v (250 mg/kg BB).

Tabel 1. Titer Imunoglobulin G (IgG) pada sumur mikrotitrasi dengan interpretasi hasil berdasarkan hemaglutinasi setelah pemberian ekstrak bunga kasumba turate dibandingkan dengan kontrol yang teramati

Pengenceran	Perlakuan dan Replikasi											
	Kontrol			Ekstrak 0,25 %			Ekstrak 0,5 %			Ekstrak 0,75 %		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1/512	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
1/256	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
1/128	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
1/64	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-
1/32	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
1/16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
1/8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
¼	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan : + terjadi aglutinasi; - tidak terjadi aglutinasi

Tabel 2. Titer imunoglobulin G (IgG) pada mencit jantan 10 hari setelah diberikan Sel Darah Merah Domba (SDMD) 2%

Replikasi	Titer Imunoglobulin G (IgG)			
	Kontrol (Air)	Kasumba Turate 0,25 % b/v	Kasumba Turate 0,5% b/v	Kasumba Turate 0,75 % b/v
1	1/64	1/16	1/512	1/8
2	1/64	1/64	1/512	1/8
3	1/64	1/32	1/512	1/8

IV.2 Pembahasan

Tanaman kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) secara empiris digunakan masyarakat khususnya di Sulawesi Selatan untuk pengobatan penyakit campak dan cacar air. Penyebab penyakit campak adalah virus campak atau morbili yang sangat berbahaya karena dapat menyebabkan kematian.

Lingkungan di sekitar manusia mengandung berbagai jenis unsur patogen, misalnya bakteri, virus, fungus, protozoa dan parasit yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia. Infeksi yang terjadi pada orang normal umumnya singkat dan jarang meninggalkan kerusakan permanen. Hal ini disebabkan tubuh manusia memiliki sistem imun (diagnosis). Sistem imun membentuk sistem pertahanan tubuh terhadap bahan asing seperti mikroorganisme (bakteri, virus, protozoa, dan parasit), molekul-molekul yang berpotensi toksik, atau sel-sel tidak normal (sel terinfeksi virus atau malignan) (13).

Imunoglobulin merupakan substansi molekul dalam serum yang mampu menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi. Molekul

ini dibentuk oleh sel B dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai reseptor permukaan untuk antigen dan sebagai antibodi yang disekresikan ke dalam cairan ekstraseluler. Injeksi suatu substansi asing ke dalam binatang yang mampu membuat respon imun akan menghasilkan antibodi spesifik yang muncul dalam serum setelah berlangsung beberapa waktu. Imunogen tersebut akan menyebabkan pengiriman sinyal pada sel-sel yang bertugas untuk membuat antibodi. Ada 5 kelas imunoglobulin yaitu IgG, IgA, IgM, IgD dan IgE (13).

Penelitian ini dilakukan dengan cara menyuntikkan sediaan uji secara oral pada mencit yang dibagi dalam empat kelompok yang sebelumnya telah diinduksi dengan antigen secara intraperitoneal. Sebagai antigen dapat digunakan sel darah merah domba (SDMD) karena merupakan antigen yang terbaik untuk pengujian produksi antibodi pada hewan coba mencit (24). Tiga kelompok mencit diberikan ekstrak air kasumba turate 0,25 % b/v (83,33 mg/kg BB); 0,5 % b/v (166,67 mg/kg BB) dan 0,75 % b/v (250 mg/kg BB), satu kelompok merupakan kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan air suling selama lima hari berturut-turut. Sepuluh hari setelah imunisasi, darah mencit diambil secara intrakardial karena kadar IgG mencapai puncaknya pada 10-14 hari setelah pemaparan antigen (13). Selanjutnya dilakukan uji hemaglutinasi.

Hemaglutinasi merupakan cara penentuan antibodi atas dasar aglutinasi sel darah merah. Aglutinasi terjadi bila antigen yang berbentuk partikel direaksikan dengan antibodi spesifik (8). Gumpalan yang

terbentuk antara antigen dan antibodi spesifik akan bersatu dan akhirnya mengendap sebagai gumpalan-gumpalan besar dan mudah terlihat dengan cairan di atasnya tetap jernih (24). Hal ini terjadi karena umumnya antibodi memiliki lebih dari satu reseptor pengikat antigen sehingga antibodi bereaksi dengan molekul antigen lain yang sudah berikatan dengan salah satu molekul antibodi dan terbentuk gumpalan (13). Reaksi aglutinasi dibantu oleh suhu ($37-56^{\circ}\text{C}$), pH 6-7,5 dan oleh gerakan yang menambah kontak antigen dan antibodi (misalnya pengocokan) dan berkumpulnya gumpalan memerlukan garam-garam (24).

Pengamatan dilakukan dengan melihat aglutinasi yang terjadi dan dihitung sebagai titer aglutinasi yaitu pengenceran tertinggi dari serum darah mencit yang masih memberikan reaksi aglutinasi positif.

Pada penelitian ini titer aglutinasi menunjukkan peningkatan aktivitas immunoglobulin G yang dapat dilihat pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak air bunga kasumba turate dengan konsentrasi 0,25 % b/v (83,33 mg/kg BB); 0,5 % b/v (166,67 mg/kg BB) dan 0,75 % b/v (250 mg/kg BB), rata-rata titer immunoglobulinnya sebesar 1/37,33; 1/512 dan 1/8 sedangkan kelompok perlakuan kontrol, rata-rata titer immunoglobulinnya 1/64. Hal ini menunjukkan pemberian ekstrak bunga kasumba turate pada konsentrasi 0,5 % mengalami peningkatan titer antibodi, sehingga dapat dikatakan ekstrak air bunga kasumba turate bersifat sebagai imunostimulator. Berarti ekstrak air bunga kasumba turate

memberikan pengaruh terhadap peningkatan aktivitas imunoglobulin G (IgG) pada mencit jantan.

Berdasarkan analisis statistika dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Analisis Sidik Ragam (ASR) memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak air bunga kasumba turate memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap peningkatan aktivitas IgG yang dapat dilihat dari nilai F hitung yang lebih besar dari nilai F tabel. Analisis antar perlakuan menggunakan uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD) antara perlakuan kontrol negatif dan kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak air kasumba turate pada konsentrasi 0,25 % b/v (83,33 mg/kg BB); 0,5 % b/v (166,67 mg/kg BB) dan 0,75 % b/v (250 mg/kg BB) memperlihatkan perbedaan yang sangat nyata (sangat signifikan).

Pada pengamatan hasil titer imunoglobulin G (IgG) pada sumur mikrotitrasi terlihat bahwa pada konsentrasi 0,75 % b/v (250 mg/kg BB) terjadi penurunan aktivitas IgG. Hal ini dapat terjadi karena dua hal yaitu pada konsentrasi tinggi ekstrak kasumba turate menjadi immunosupresan atau ekstrak kasumba turate sudah mulai bersifat toksik.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data secara statistika, maka disimpulkan bahwa ekstrak air bunga kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) pada konsentrasi 0,5 % b/v (166,67 mg/kg BB) memberikan pengaruh yang sangat signifikan dalam meningkatkan aktivitas imunoglobulin G (IgG) dibandingkan dengan konsentrasi 0,25 % b/v (83,33 mg/kg BB) dan 0,75 % b/v (250 mg/kg BB).

VI.2 Saran

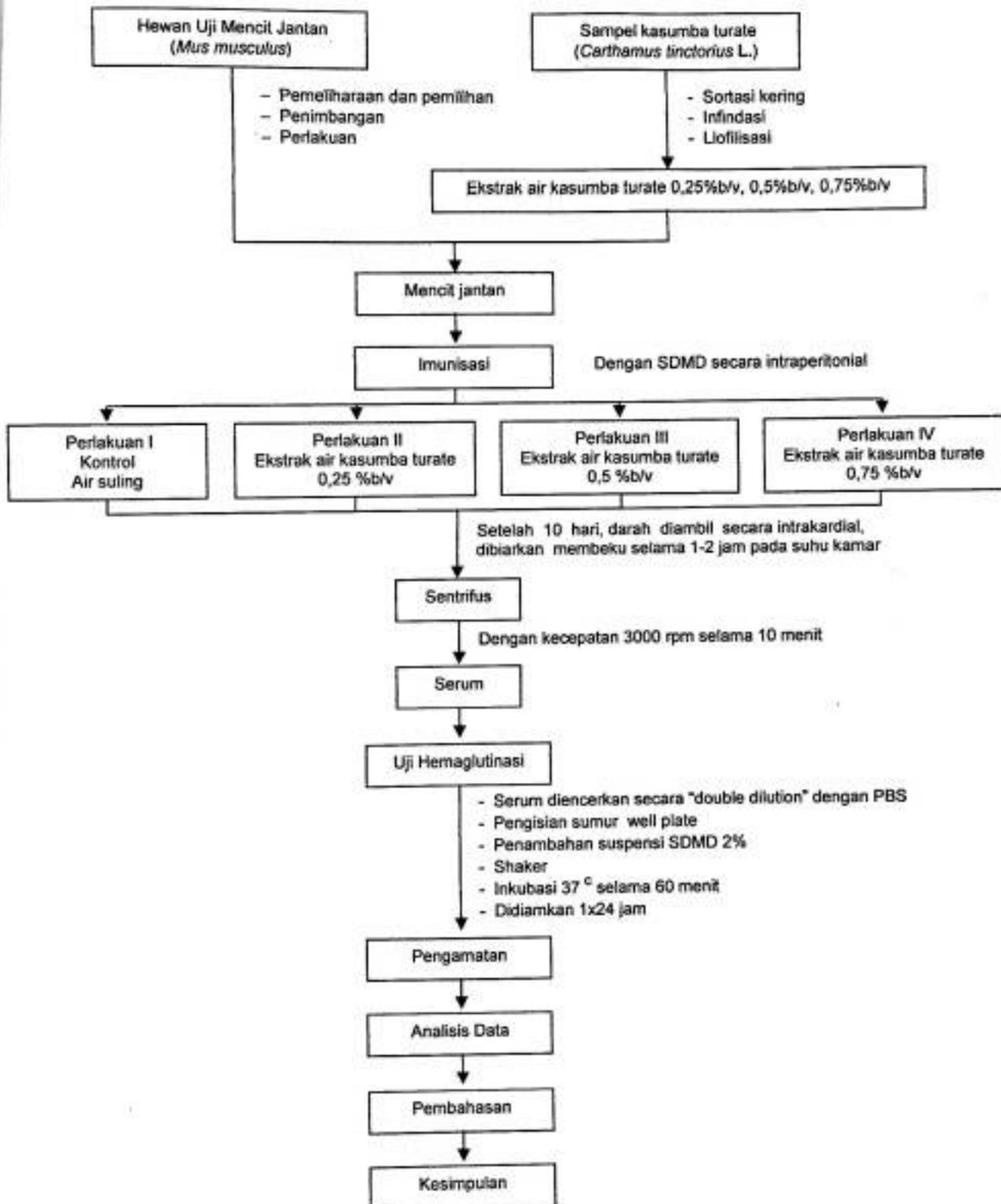
Perlu dilakukan penelitian selanjutnya untuk menentukan dosis dari ekstrak air bunga kasumba turate terhadap aktivitas imunoglobulin (IgG) pada mencit dan uji toksisitas dari ekstrak air bunga kasumba turate.

DAFTAR PUSTAKA

1. Syukur, C., 2005. *Tanaman Obat*. Penebar Swadaya. Jakarta. 5
2. Van der Vosen, H.A.M. and Umali, B.E. 2001. "Plant Resources of South-East Asia: Vegetables oils and fats. Volume 14. Backhuys Publishers. Leiden. 70-72.
3. Hasuki, I. 2006. *Campak Jerman (Rubela)*. <http://www.mail-archive.com/milis-nakita@news.gramedia-majalah.com/>, diakses 06 Maret 2006
4. Corwin, E. J. BSN. 1997. *Buku Saku Patofisiologi*. Diterjemahkan oleh dr. Brahm U. Pendit, Sp.KK. Penerbit buku Kedokteran EGC. Jakarta.
5. Umar, S., 2007. *Efek ekstrak etanol bunga kasumba turate (Carthamus tinctorius L.) terhadap aktivitas imunoglobulin G (IgG) dan Peningkatan Bobot Limpa Pada mencit jantan (Mus musculus)*. Skripsi Jurusan Farmasi. F MIPA. UNHAS. Makassar.
6. Dajue, L and Mundel, H. H., 1996. *Safflower*. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). Rome, Italy.
7. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta.
8. Bratawidjaja, K. 2004. *Imunologi Dasar*. Ed. VII. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 6, 73, 76
9. Roitt, I. M. 1988. *The Basic of Immunology II. Specific Immunity In Essential Immunology*. 6th Edition. Blackwell Scientific Publication. Oxford. 15-27.
10. Bellanti, J.A., 1993. *Imunologi III*. Gadjah Mada University. Yogyakarta. 97
11. Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar*. Edisi II. Universitas Indonesia. Jakarta. 170-174.
12. Roitt, I.M., Brostoff J., and Male, D., 1987. *Adaptive and Innate Immunity In : Immunology*. Second Edition. London. Churchill Livingstone. 1-19.

13. Kresno, B., 1996. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi III. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 30.
14. Sadikin, M., 2002. *Biokimia Darah*, Widya Medika, Jakarta, 113. Winarno, M., 200.
15. Rose, N., Milgrom, F., and Van Oss, J. C. 1973. *Principle of Immunology*. Muacmilan Publishing Co. New York. 122, 125
16. Guyton, A.C., 1993. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 83-84.
17. Barrett, J.T., 1988. *Textbook of Immunolog*. Fifth Edition. CV. Mosby Company, USA., 26.
18. Kimbal, J.W., 1986. *Introduction to Immunology*. Second Edition. Macmillan Publishing Company. New York. 95, 96, 98.
19. Weir, D.M., 1990. *Segi Praktis Imunologi*. Binarupa Aksara. Jakarta. 32,33,129.
20. Direktorat Jenderal POM. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 11.
21. Gennaro, A.R., 1990. *Remington's Pharmaceutical Science*. 18th Edition. Mack Publishing Company. Easton-Pensylvania. 1047.
22. Winarno, M., 2000, *Penelitian Aktivitas Biologik Infus Benalu Teh (*Scurulla atropurpurea* BL Danser) terhadap aktivitas Sistem Imun Mencit*, <http://www.kalbefarma.com/files/cdk/files>.
23. Malole, M.B.M., dan Pramono, C.S.U., 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Penelaah Masduki Partadiredja, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Tinggi Pusat Antara Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor, 105
24. Ma'at, S. 2004. *Penelitian dan Pengembangan Produk Fitofarmaka dari daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) Untuk Terapi Demam Berdarah Dengue Berdasarkan Data Preklinik, Toksisitas dan Percobaan Klinik*. Universitas Airlangga. Surabaya. 102-103.

Lampiran 1 Skema Kerja



Lampiran 2
Perhitungan Dosis

1. Konsentrasi 0,25 %

$$\begin{aligned}0,25 \% &= 0,25 \text{ g}/100 \text{ ml} \\ &= 0,0025 \text{ g/ml} \\ &= 2,5 \text{ mg/ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Untuk } 30 \text{ g mencit} &= \frac{2,5 \text{ mg}}{30 \text{ g BB}} \\ &= 83,33 \text{ mg / kg BB}\end{aligned}$$

$$\text{Dosis untuk } 20 \text{ g mencit} = 1,667 \text{ mg / } 20 \text{ g BB}$$

$$\text{Konversi dosis dari mencit } 20 \text{ g ke manusia } 70 \text{ kg} = 387,9$$

$$\begin{aligned}\text{Dosis untuk manusia} &= 1,667 \text{ mg} \times 387,9 \\ &= 646,629 \text{ mg / } 70 \text{ kg BB manusia}\end{aligned}$$

2. Konsentrasi 0,5 %

$$\begin{aligned}0,5 \% &= 0,5 \text{ g}/100 \text{ ml} \\ &= 0,005 \text{ g/ml} \\ &= 5 \text{ mg/ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Untuk } 30 \text{ g mencit} &= \frac{5 \text{ mg}}{30 \text{ g BB}} \\ &= 166,67 \text{ mg / kg BB}\end{aligned}$$

$$\text{Dosis untuk } 20 \text{ g mencit} = 3,333 \text{ mg / } 20 \text{ g BB}$$

$$\text{Konversi dosis dari mencit } 20 \text{ g ke manusia } 70 \text{ kg} = 387,9$$

$$\begin{aligned}\text{Dosis untuk manusia} &= 3,333 \text{ mg} \times 387,9 \\ &= 1292,871 \text{ mg / } 70 \text{ kg BB manusia}\end{aligned}$$

3. Konsentrasi 0,75 %

$$0,75 \% = 0,75 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

$$= 0,0075 \text{ g/ml}$$

$$= 7,5 \text{ mg/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Untuk } 30 \text{ g mencit} &= \frac{7,5 \text{ mg}}{30 \text{ g BB}} \\ &= 250 \text{ mg / kg BB} \end{aligned}$$

$$\text{Dosis untuk } 20 \text{ g mencit} = 5 \text{ mg / } 20 \text{ g BB}$$

$$\text{Konversi dosis dari mencit } 20 \text{ g ke manusia } 70 \text{ kg} = 387,9$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk manusia} &= 5 \text{ mg} \times 387,9 \\ &= 1939,5 \text{ mg / } 70 \text{ kg BB manusia} \end{aligned}$$

Lampiran 3

Perhitungan statistik data aktivitas Immunoglobulin G (IgG) mencit jantan berdasarkan titer IgG pada pemberian ekstrak air bunga kasumba turate berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD)

Tabel 3. Data titer Immunoglobulin G (IgG) setelah ditransformasi dengan $[2 \log (\text{titer})] + 1$

Perlakuan	Hewan Uji			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol (Air)	2,61	2,61	2,61	7,84	2,61
Ekstrak Bunga Kasumba Turate 0,25 %	1,41	2,61	2,01	6,03	2,01
Ekstrak Bunga Kasumba Turate 0,5 %	4,42	4,42	4,42	13,26	4,42
Ekstrak Bunga Kasumba Turate 0,75 %	0,81	0,81	0,81	2,42	0,81
Jumlah Total				29,54	2,46

$$\begin{aligned}
 \left[2 \log \frac{1}{8} \right] + 1 &= [2 \log 0,125] + 1 \\
 &= [2x(-0,903)] + 1 \\
 &= [(-1,806) + 1] \\
 &= |-0,806| \\
 &= 0,806 = 0,81
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \left[2 \log \frac{1}{16} \right] + 1 &= [2 \log 0,0625] + 1 \\
 &= [2x(-1,204)] + 1 \\
 &= [(-2,40) + 1] \\
 &= |-1,40| \\
 &= 1,408 = 1,41
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \left[\left[2 \log \frac{1}{32} \right] + 1 \right] &= \left[\left[2 \log 0,03125 \right] + 1 \right] \\ &= \left[\left[2x(-1,505) \right] + 1 \right] \\ &= \left[(-3,01) + 1 \right] \\ &= \left| -2,01 \right| \\ &= 2,010 = 2,01 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \left[\left[2 \log \frac{1}{64} \right] + 1 \right] &= \left[\left[2 \log 0,0156 \right] + 1 \right] \\ &= \left[\left[2x(-1,8062) \right] + 1 \right] \\ &= \left[(-3,612) + 1 \right] \\ &= \left| -2,612 \right| \\ &= 2,612 = 2,61 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \left[\left[2 \log \frac{1}{512} \right] + 1 \right] &= \left[\left[2 \log 0,001953 \right] + 1 \right] \\ &= \left[\left[2x(-2,709) \right] + 1 \right] \\ &= \left[(-5,418) + 1 \right] \\ &= \left| -4,418 \right| \\ &= 4,418 = 4,42 \end{aligned}$$

Analisis Sidik Ragam (ASR)

A. Sumber keragaman

- Model : $Y = \mu + \sigma + \zeta$
 Dimana : μ = Total hasil percobaan
 σ = Nilai rata-rata harapan
 ζ = Pengaruh kesalahan/salat

Sumber keragaman adalah :

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

B. Perhitungan Derajat bebas (Db)

1. $DbT = (r \cdot t) - 1 = (3 \cdot 4) - 1 = 11$
2. $DbP = t - 1 = 4 - 1 = 3$
3. $DbG = DbT - DbP = 11 - 3 = 8$

C. Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

$$FK = \frac{T_{ij}^2}{r \cdot f} = \frac{(29,54^2)}{3 \times 4} = \frac{872,6116}{12} = 72,717 = 72,72$$

$$1. JKT = T(Y_{ij}^2) - FK$$

$$= (2,61^2 + 2,61^2 + \dots + 0,81^2) - FK$$

$$= 93,8541 - 72,72$$

$$= 21,134 = 21,13$$

$$2. JKP = \frac{T_p^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(7,84^2 + 6,03^2 + \dots + 2,42^2)}{3} - FK$$

$$= \frac{279,5105}{3} - 72,72$$

$$= 93,1702 - 72,72$$

$$= 20,450 = 20,45$$

$$3. JKG = JKT - JKP$$

$$= 21,13 - 20,45$$

$$= 0,68$$

D. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

$$1. KTP = \frac{JKP}{Dbp} = \frac{20,45}{3} = 6,816 = 6,82$$

$$2. KTG = \frac{JKG}{DbG} = \frac{0,68}{8} = 0,085 = 0,09$$

E. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$F_{hp} = \frac{KTP}{KTG} = \frac{6,82}{0,09} = 75,777 = 75,78$$

Tabel 4. Hasil Analisa Sidik Ragam (ASR) perlakuan terhadap rasio perubahan aktivitas Immunoglobulin G (IgG)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fh	Ft	
					5%	1%
Perlakuan (p)	3	20,45	6,82	75,78**	4,07	7,59
Galat (G)	8	0,68	0,09			
Total (T)	11	21,13				

Keterangan : (**) Sangat berbeda nyata karena $F_h > F_t$, H_0 ditolak, Hipotesa (H_1) diterima, yaitu ada pengaruh pemberian ekstrak air bunga kasumba turate terhadap aktivitas Immunoglobulin G (IgG) Mencit Jantan.

$$\text{Nilai tengah } (\bar{y}) = \frac{T_{ij}}{rI} = \frac{29,54}{3 \times 4} = 2,461 = 2,46$$

$$\begin{aligned} \text{Koefisien Keragaman } (KK) &= \frac{\sqrt{KTG}}{\bar{y}} \times 100\% \\ &= \frac{\sqrt{0,09}}{2,46} \times 100\% \\ &= 12,195\% \end{aligned}$$

Kesimpulan : Dari hasil analisa statistik diperoleh bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak air bunga kasumba turate terhadap aktivitas imunoglobulin G (IgG) Mencit Jantan dengan nilai KK (12,195%) maka analisa statistik dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD)

Analisis Lanjutan dengan Uji Beda Nyata Jarak Duncan

$$KTG = 0,09$$

$$v = 8$$

$$r = 3$$

Sehingga :

$$S_{-d} = \sqrt{\frac{KTG}{r}} = \sqrt{\frac{(0,09)}{3}} = 0,173 \sim 0,17$$

$$G = 8$$

$$\text{Perlakuan} = 4$$

$$\text{JNT 5\%} = S_{-d} \times \text{JN 5\%} \quad \text{Dan} \quad \text{JNT 1\%} = S_{-d} \times \text{JN 1\%}$$

$$\text{JNT 5\% 2} = 0,17 \times 3,26 = 0,5542 \sim 0,55$$

$$\text{JNT 1\% 2} = 0,17 \times 4,74 = 0,8058 \sim 0,81$$

Dan seterusnya.....

Perlakuan	Efek	BNJ Pada Perlakuan		
		2	3	4
Kontrol (-)	2,61	-	-	-
0,25%	2,01	0,60 ^s	-	-
0,5%	4,42	2,41 ^{ss}	1,81 ^{ss}	-
0,75%	0,82	3,60 ^{ss}	1,19 ^{ss}	1,79 ^{ss}
JN	5%	3,26	3,39	3,47
	1%	4,74	5,00	5,14
JNT	5%	0,55	0,58	0,59
	1%	0,81	0,85	0,87

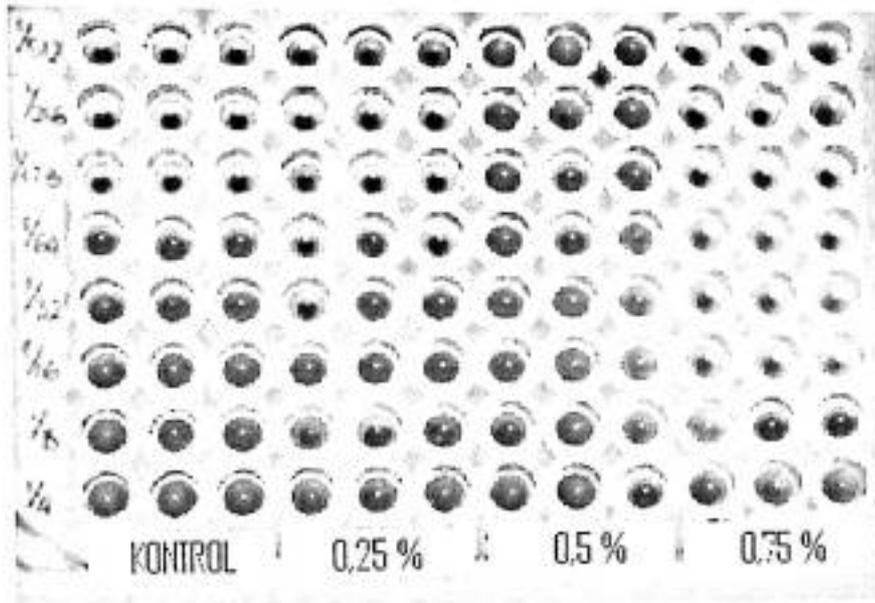
Keterangan :

NS = Non signifikan

S = Signifikan

SS = Sangat signifikan

Lampiran 4
Gambar dan Foto Hasil Penelitian



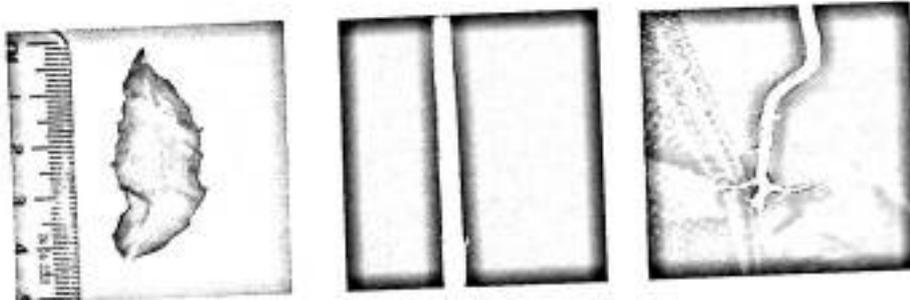
Gambar 3. Foto data titer Immunoglobulin G (IgG) pada sumur mikrotitrasi



Tanaman Kasumba Turate



Bunga Kasumba Turate



Daun

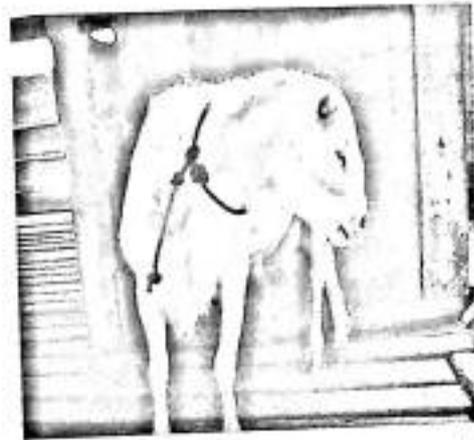
Batang

Akar

Gambar 4. Tanaman kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.)



Gambar 5. Hewan coba mencit jantan dengan perlakuan secara oral



Gambar 6. Domba sumber antigen sel darah merah domba (SDMD)



Gambar 7. Sel darah merah domba (SDMD)



Gambar 8. Imunisasi dengan sel darah merah domba 2% secara intraperitoneal pada mencit



Gambar 9. Pengambilan darah secara intrakardial pada mencit



Gambar 10. Penambahan antigen (SDMD) ke dalam sumur yang sebelumnya telah diisi dengan PBS dan serum darah mencit



Gambar 11. Alat Setrifuge (*Hettich*)



Gambar 12. Alat "Shaker"



Gambar 13. Alat Inkubator