

UJI EFEK JUS BAWANG MERAH (*Allium cepa* var. *ascalonicum*)
TERHADAP AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN M (IgM)
KELINCI JANTAN (*Oryctolagus cuniculus*)

JANNATUL MA'WA
N 111 04 378



No. 1	Fale-Fatmaji
No. 2	Ida
No. 3	Habib
No. 4	
No. 5	

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008

**UJI EFEK JUS BAWANG MERAH (*Allium cepa* var. *ascalonicum*)
TERHADAP AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN M (IgM)
KELINCI JANTAN (*Oryctolagus cuniculus*)**

SKRIPSI

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

**JANNATUL MA'WA
N 111 04 378**

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

LEMBAR PENGESAHAN

UJI EFEK JUS BAWANG MERAH (*Allium cepa* var. *ascalonicum*)

TERHADAP AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN M (IgM)

KELINCI JANTAN (*Oryctolagus cuniculus*)

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama-



Drs. H. Hasyim Bariun, M.Si, Apt.
NIP. 130 878 519

Pembimbing Pertama



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

Pembimbing Kedua



Dr. Eva Firmina Sabu, M.Sc, Apt.
NIP. 132 010 567

Pada Tanggal :

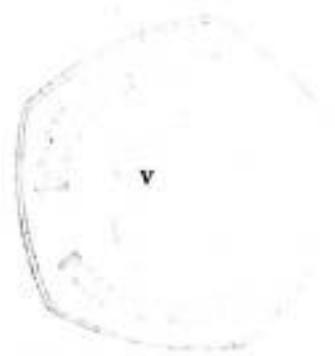
2008

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur yang sedalam-dalamnya penulis panjatkan kepada Allah SWT, atas segala rahmat dan lindungan-Nya yang dilimpahkan kepada penulis sehingga penulisan skripsi ini dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Program Reguler Sore Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa terwujudnya tugas akhir ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Secara khusus kepada kedua orang tua penulis tercinta serta saudara-saudara penulis yang tak pernah lelah memberi perhatian, pengertian dan kasih sayang yang tulus serta dorongan moral dan material selama penulis menapaki jenjang pendidikan.
2. Bapak Drs. H. Hasyim Bariun, M.Si, Apt. sebagai pembimbing utama, Ibu Dra. Rahmawati Syukur, M.Si, Apt. Sebagai pembimbing pertama sekaligus penasehat akademik dan Ibu Dr. Eva Firmina Sabu, M.Sc, Apt. Sebagai pembimbing kedua yang telah banyak memberikan bimbingan, petunjuk dan pengarahan kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
4. Bapak dan Ibu Pembantu Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.



5. Bapak dan Ibu Dosen serta staf pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
6. Rekan-rekan mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin angkatan 2004, kakak senior 2001, 2002, dan 2003 yang telah banyak memberikan semangat dan bantuan dalam penyelesaian skripsi ini.
7. Terkhusus kepada K. Abie serta teman-teman seperjuangan Lia, Fery, Deby, Iyank, Ndah, kak Musda, Caly, Fikry, Irman, Memet, Babang.
8. Semua pihak yang telah banyak memberikan motivasi kepada penulis yang tidak penulis sebutkan.

Akhirnya penulis harapkan semoga karya kecil ini dapat memberikan manfaat dan nilai tambah bagi yang membacanya.

Makassar, 2008

JANNATUL MA'WA

ABSTRAK

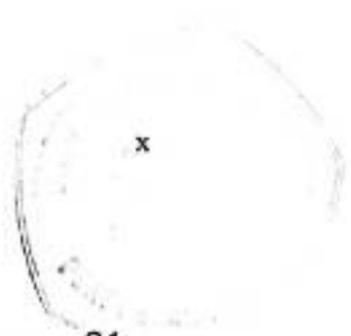
Telah dilakukan penelitian tentang uji efek jus bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) terhadap aktivitas imunoglobulin M (IgM) kelinci jantan (*Oryctolagus cuniculus*) dengan metode hemaglutinasi. Penelitian ini bertujuan untuk memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh bawang merah terhadap aktivitas sistem imun kelinci jantan. Kelinci jantan digunakan sebanyak 4 ekor yang di induksi dengan sel darah merah domba (SDMD) 2% v/v secara intraperitoneal. Kelinci dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu kontrol yang hanya diberi air suling dan yang lain diberi perlakuan dengan jus bawang merah dengan konsentrasi masing-masing 2,5% b/v, 5% b/v dan 7,5% b/v selama lima hari berturut-turut. Pada hari keenam setelah pemberian SDMD, darah kelinci diambil secara intravena. Pengujian aktivitas imunoglobulin M (IgM) menggunakan metode hemaglutinasi berdasarkan titer IgM yaitu pengenceran tertinggi serum darah kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang masih menunjukkan aglutinasi. Berdasarkan analisis statistika dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan analisis lanjutan dengan metode uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD) memperlihatkan bahwa pemberian jus bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) konsentrasi 2,5% b/v, 5% b/v dan 7,5% b/v dapat meningkatkan aktivitas IgM yang sangat berbeda nyata dengan efek yang diperlihatkan oleh kontrol. Peningkatan aktivitas IgM antara ketiga konsentrasi tidak berbeda nyata.

Kata kunci : Bawang merah, Imunoglobulin M (IgM), Hemaglutinasi

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Uraian Tanaman Bawang Merah (<i>Allium cepa</i> var. <i>ascalonicum</i>).....	4
II.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	4
II.1.2 Penamaan Tanaman.....	4
II.1.3 Morfologi Tanaman.....	5
II.1.4 Tempat Tumbuh.....	5
II.1.5 Kandungan Kimia.....	5
II.1.6 Kegunaan.....	6
II.2 Uraian Sistem Imunitas Tubuh.....	6

II.2.1 Definisi.....	6
II.2.2 Klasifikasi.....	7
II.3 Antigen	10
II.4 Antibodi.....	11
II.4.1 Immunoglobulin.....	11
II.4.2 Struktur Immunoglobulin.....	11
II.4.3 Fungsi Immunoglobulin	13
II.4.4 Klasifikasi Immunoglobulin.....	13
II.5 Immunoglobulin M (IgM).....	14
II.5.1 Sifat Fisikokimia.....	14
II.5.2 Struktur dan Sifat.....	15
II.5.3 Aktivitas Biologi dan Immunologi.....	16
II.6 Teknik Immunokimia.....	16
II.6.1 Immunopresipitasi.....	17
II.6.2 Aglutinasi.....	17
II.6.3 Hemaglutinasi Pasif.....	18
II.7 Uraian Hewan Coba.....	19
II.7.1 Klasifikasi Kelinci.....	19
II.7.2 Karakteristik.....	19
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN.....	21
III.1 Alat dan Bahan yang digunakan.....	21



III.2 Penyiapan Sampel	21
III.2.1 Pengambilan Sampel.....	21
III.2.2 Pengolahan Sampel.....	21
III.2.3 Pembuatan Jus.....	22
III.2.4 Liofilisasi Jus.....	22
III.2.5 Pembuatan Sediaan Uji.....	22
III.3 Pengujian Aktivitas IgM pada Hewan Coba.....	22
III.3.1 Pembuatan Phospat Buffered Saline (PBS).....	22
III.3.2 Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah Domba (SDMD) 2% V/V.....	23
III.4.3 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Coba.....	23
III.4.4 Uji Aktivitas IgM Awal (Hemaglutinasi).....	23
III.4.5 Perlakuan Terhadap Hewan Coba.....	24
III.4.6 Pengambilan Sampel Darah Hewan Coba.....	25
III.4.7 Uji Hemaglutinasi.....	25
III.5 Pengumpulan dan Analisis Data.....	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
IV.1 Hasil Penelitian.....	27
IV.2 Pembahasan.....	28
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	31
V.1 Kesimpulan	31

V.2 Saran.....	31
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Uji Efek Jus Bawang merah (<i>Allium cepa</i> var. <i>ascalonicum</i>) Terhadap Aktivitas Immunoglobulin M (IgM) Kelinci Jantan (<i>Oryctolagus cuniculus</i>).....	34
2. Analisis Statistika Aktivitas Immunoglobulin M (IgM) Kelinci Jantan Berdasarkan Titer IgM Sebelum Imunisasi dan Pemberian Jus Bawang merah (<i>Allium cepa</i> var. <i>ascalonicum</i>) Dengan Menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).....	35
3. Analisis Statistika Aktivitas Immunoglobulin M (IgM) Kelinci Jantan Berdasarkan Titer IgM Setelah Pemberian Jus Bawang merah (<i>Allium cepa</i> var. <i>ascalonicum</i>) Dengan Menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Dan Uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD).....	38

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data Uji Aktivitas Imunoglobulin M (IgM) Kelinci Jantan Sebelum Imunisasi dan Pemberian Jus Bawang merah (<i>Allium cepa</i> var. <i>ascalonicum</i>).....	27
2. Data Uji Aktivitas Imunoglobulin M Setelah Pemberian Jus Bawang merah (<i>Allium cepa</i> var. <i>ascalonicum</i>).....	28
3. Data titer imunoglobulin M (IgM) setelah ditransformasi dengan : $[2\log(\text{titer})] + 1$	35
4. Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Rasio perubahan aktivitas Imunoglobulin M (IgM).....	37
5. Data titer imunoglobulin M (IgM) setelah ditransformasi dengan : $[2\log(\text{titer})] + 1$	38
6. Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Rasio perubahan aktivitas Imunoglobulin M (IgM).....	40
7. Hasil Analisis Uji Beda Jarak Nyata Duncan.....	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur bangun dasar imunoglobulin.....	12
2. Struktur bangun imunoglobulin M (IgM).....	15
3. Skema Kerja Uji Efek Jus Bawang merah (<i>Allium cepa</i> var. <i>ascalonicum</i>) Terhadap Aktivitas Imunoglobulin IgM Kelinci Jantan (<i>Oryctolagus cuniculus</i>).....	34
4. Histogram aktivitas imunoglobulin M (IgM) terhadap konsentrasi jus bawang merah (<i>Allium cepa</i> var. <i>ascalonicum</i>).....	43
5. Foto data titer imunoglobulin M (IgM) awal pada sumur mikrotitrasi.....	44
6. Foto data titer imunoglobulin M (IgM) setelah perlakuan pada sumur mikrotitrasi.....	45

BAB I

PENDAHULUAN

Berbagai polutan sebagai benda asing setiap saat dapat masuk ke dalam tubuh sehingga dapat menimbulkan reaksi yang tidak diinginkan seperti terjadinya infeksi dan penyakit lainnya. Hal ini memicu terjadinya interaksi antara antigen dan antibodi yang terdapat dalam serum darah. Untuk melindungi diri dari hal tersebut dibutuhkan sistem pertahanan tubuh yang kuat (1,2).

Proses pertahanan tubuh berkaitan erat dengan antibodi. Antibodi adalah protein imunoglobulin yang disekresi oleh limfosit B (sel B) yang terfiksasi oleh antigen, berat molekulnya kira-kira 150.000 Da sampai 950.000 Da tergantung pada kelasnya. Imunoglobulin merupakan substansi pertama yang diidentifikasi sebagai molekul dalam serum yang mampu menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi. Hingga kini dikenal 5 kelas utama imunoglobulin, yaitu IgM, IgG, IgA, IgD dan IgE. IgM adalah kelas utama imunoglobulin yang pertama dibentuk atas rangsangan antigen. Respon IgM umumnya pendek, yaitu berkisar 5 sampai 7 hari pertama setelah respon imun primer. Fenomena ini digunakan untuk menentukan apakah suatu infeksi yang diderita seseorang akut atau tidak (1,3,4).

Daya tahan tubuh tidak cukup dipelihara hanya dengan keseimbangan gizi, tetapi juga harus diciptakan secara alami oleh organ-organ tubuh. Untuk mempertahankan daya tahan tubuh, masyarakat

biasanya mengkonsumsi obat-obatan dan vitamin, namun dengan semakin melambungnya harga membuat masyarakat mencari cara lain agar dapat mempertahankan kesehatan. Salah satu cara yang dilakukan yaitu dengan mengkonsumsi obat tradisional yang dapat meningkatkan dan mempertahankan organ pendukung pertahanan tubuh alami tersebut dimana harganya pun relatif lebih murah (5).

Salah satu tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional adalah bawang merah. Bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) banyak memberikan manfaat bagi kehidupan manusia. Dari beberapa penelitian dan analisa yang telah dilakukan, bawang merah mengandung 2 komponen, yaitu sulfur seperti alil propil sulfida (APDS) dan flavonoid seperti kuersetin. Bawang merah dapat mengurangi resiko kanker, penyakit jantung dan kencing manis, disamping itu mempunyai sifat antibakteri, antivirus, antialergi dan antiinflamasi. Dari penelitian terkini, bawang merah diketahui mengandung fenolik 6 kali lebih banyak dibanding bawang biasa, yang dapat membantu hati mengeluarkan toksin dari tubuh dan saponin untuk mencegah dan membunuh sel kanker. Efektivitas bawang (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) pada berbagai jenis penyakit infeksi maupun penyakit noninfeksi diduga karena kemampuannya dalam meningkatkan daya tahan tubuh atau imunopotensiasi (6).

Berdasarkan hal tersebut diatas, maka dilakukan penelitian uji efek jus bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) terhadap aktivitas

imunoglobulin M (IgM) dengan menggunakan metode hemaglutinasi. Penelitian ini dimaksudkan untuk meneliti efek bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) terhadap aktivitas IgM pada kelinci jantan (*Oryctolagus cuniculus*) dengan mengamati hasil titer IgM dengan tujuan agar memperoleh informasi ilmiah tentang pengaruh bawang merah terhadap aktivitas sistem imun.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman Bawang Merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*)

II.1.1 Klasifikasi Tanaman (7)

- Kerajaan : Plantae
Filum : Spermatophyta
Anak filum : Angiospermae
Kelas : Monocotyledonae
Bangsa : Liliales
Suku : Liliaceae
Marga : *Allium*
Jenis : *Allium cepa* var. *ascalonicum*

II.1.2 Penamaan Tanaman (8,9,10)

Dalam penulisan ini yang dimaksudkan bawang merah adalah umbi bawang merah.

Asing : Shallot (Inggris); Syalot (Belanda); Eschalauch (Serbia),
Echalote (Prancis); Tamangi (Jepang).

Daerah : Bawang abang mirah (Aceh); Pia (Batak); Bawang abang (Palembang); Bawang sirah, Barambang sirah, Dasun merah (Minangkabau); Bawang suluh (Lampung); Bawang beureum (Sunda); Brambang, Brambang abang (Jawa); Bhabang mera (Madura); Jasun bang, Jasun mirah (Bali); Lasuna mahamu, Ransuna mahendeng, Yantuna mopura, Dansuna

.rundang, Lasuna randang, Lansuna mea, Lansuna Raindang (Sulawesi Utara); Bawangi (Gorontalo); Laisuna pilas, Laisuna mpilas (Roti); Kalpeo meh (Timor); Bowang wulwul (Kai); Kosai miha; Bawa rohiha (Ternate); Bawa kahori (Tidore).

II.1.3 Morfologi Tanaman (9,11)

Bawang merah adalah tanaman semusim dan memiliki umbi yang berlapis. Tanaman mempunyai akar serabut, dengan daun berbentuk silinder berongga. Umbi terbentuk dari pangkal daun yang bersatu dan membentuk batang yang berubah bentuk dan fungsi, membesar dan membentuk umbi berlapis. Umbi bawang merah terbentuk dari lapisan-lapisan daun yang membesar dan bersatu. Umbi bawang merah bukan merupakan umbi sejati.

II.1.4 Tempat Tumbuh (9,10)

Bawang merah dapat tumbuh cukup baik di dataran pada ketinggian 10-250 m dpl, tetapi terbaik adalah sampai ketinggian 30 m dpl. Pada suhu agak panas, sebaiknya ditanam di daerah bersuhu antara 25-32° C dengan iklim kering dan paling baik jika suhu rata-rata tahunannya 30° C. Keasaman tanah (pH) yang agak asam sampai normal (6,0-6,8).

II.1.5 Kandungan Kimia (10)

Bagian tanaman yang digunakan untuk obat adalah umbi lapis. Umbi ini mengandung minyak atsiri, sikloaliin, metilaliin, dihidroliin, kuersetin, dan florogusin.

II.1.6 Kegunaan (10,11)

Khasiatnya sebagai pencegah pilek, demam, cacar, menghilangkan lendir di tenggorokan, maag, sembelit, memperlancar aliran darah, mencegah tekanan darah tinggi dan jantung koroner, dan menurunkan kadar gula dan kolesterol dalam darah. Selain itu juga digunakan untuk menyembuhkan impotensi, mempertahankan gairah seksual, dan mempertahankan kebugaran tubuh.

II.2 Uraian Sistem Imunitas Tubuh

II.2.1 Definisi (4,12,13)

Imunitas adalah resistensi terhadap penyakit terutama penyakit infeksi. Gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi disebut sistem imun dan reaksi yang dikoordinasi sel-sel dan molekul-molekul terhadap mikroba dan bahan lainnya disebut respon imun. Sistem imun diperlukan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup. Pertahanan imun terdiri atas sistem imun alamiah atau nonspesifik (*natural/innate/native*) dan didapat atau spesifik (*adaptive/acquired*).

Respon imun seseorang terhadap unsur-unsur patogen sangat bergantung pada kemampuan sistem imun untuk mengenal molekul-molekul asing atau antigen yang terdapat pada permukaan unsur patogen dan kemampuan untuk melakukan reaksi yang tepat untuk menyingkirkan antigen.

II.2.2 Klasifikasi (4,13,14)

Sistem imun tubuh pada manusia dibagi dalam 2 kelompok besar :

1. Respon Imun nonspesifik

Sistem imun nonspesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme, oleh karena dapat memberikan respons langsung terhadap antigen. Disebut nonspesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroba tertentu, telah ada dan siap berfungsi sejak lahir. Mekanismenya tidak menunjukkan spesifitas terhadap bahan asing dan mampu melindungi tubuh terhadap banyak patogen.

Komponen-komponen sistem imun nonspesifik terdiri atas :

a. Pertahanan fisik/mekanik

Sistem pertahanan fisik/mekanik ini melibatkan kulit, selaput lendir, silia saluran nafas, proses batuk dan bersin untuk mencegah masuknya berbagai kuman patogen ke dalam tubuh. Kulit yang rusak misalnya oleh luka bakar dan selaput lendir yang rusak antara lain oleh asap rokok akan meningkatkan resiko infeksi.

b. Pertahanan biokimia

pH asam keringat dan sebaseus, berbagai asam lemak yang dilepas kulit mempunyai efek denaturasi protein sehingga dapat mencegah infeksi yang terjadi melalui kulit.

Lisozim dalam keringat, ludah, air mata dan air susu ibu melindungi tubuh dari berbagai kuman gram-positif oleh karena

dapat menghancurkan lapisan peptidoglikan dinding bakteri. Air susu ibu juga mengandung laktooksidase dan asam neuraminik yang mempunyai sifat anti bakterial terhadap *E. coli* dan stafilokokus.

c. Pertahanan humoral

Berbagai bahan dalam sirkulasi seperti komplemen, interferon, dan kolektin berperan dalam pertahanan humoral. Serum normal dapat membunuh dan menghancurkan beberapa bakteri gram negatif. Hal itu disebabkan oleh adanya kerja sama antara antibodi dan komplemen.

d. Pertahanan selular

Salah satu upaya tubuh untuk mempertahankan diri terhadap masuknya antigen adalah menghancurkan bakteri bersangkutan secara nonspesifik dengan proses fagositosis. Fagosit, makrofag, sel *Natural Killer* (NK) berperan dalam sistem imun non spesifik seluler ini.

2. Respon imun Spesifik

Sistem imun spesifik adalah merupakan sistem pertahanan tubuh lapis kedua, jika sistem imun nonspesifik tidak mampu mengeliminasi agen penyakit.

Benda asing yang pertama kali muncul dalam badan segera dikenal oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitasi sel-sel sistem imun tersebut. Sistem imun ini disebut spesifik karena sistem ini

hanya dapat menghancurkan benda asing yang sudah dikenal sebelumnya.

a. Sistem imun spesifik humoral

Limfosit B atau sel B mempunyai peranan penting dalam sistem imun spesifik humoral. Bila limfosit B dirangsang oleh antigen, sel tersebut akan berproliferasi, berdiferensiasi dan berkembang menjadi sel plasma yang membentuk antibodi. Antibodi ini berikatan dengan antigen membentuk kompleks antigen antibodi yang dapat mengaktivasi komplemen dan menyebabkan hancurnya antigen tersebut. Antibodi yang dilepas dapat ditemukan di dalam serum. Fungsi utama antibodi ini ialah pertahanan terhadap infeksi ekstraseluler, virus dan bakteri serta menetralisasi toksinnya.

b. Pertahanan seluler

Banyak mikroorganisme yang hidup dan berkembang biak intraseluler. Untuk melawan mikroorganisme intraseluler itu diperlukan respon imun selular. Yang berperan dalam sistem imun spesifik seluler adalah limfosit T atau sel T. Berbeda dengan sel B, sel T terdiri atas beberapa sel subset dengan fungsi yang berlainan. Fungsi utama sistem imun spesifik seluler ialah untuk pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraseluler, virus, jamur dan parasit.

c. Interaksi antara respon imun humoral dengan selular

Interaksi ini disebut *antibodi 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.

II.3 Antigen

Antigen adalah suatu molekul yang terikat pada suatu struktur protein spesifik yang disebut antibodi. Istilah lain yang berkenaan dengan antigen adalah imunogen yakni suatu antigen yang mengaktivasi sel imun untuk memicu respon imun melawan dirinya sendiri. 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 (13,15).

Ikatan antigen pada antibodi yang spesifik menyediakan mekanisme dimana antigen tersebut akan dinaktivasi dan dihancurkan. Secara fisika, antigen merupakan molekul besar dengan berat molekul 10.000 atau lebih, walaupun beberapa nanopeptida dengan berat molekul 1000 dapat bersifat sebagai antigen. Secara kimia antigen dapat berasal dari golongan protein atau polisakarida atau terdiri dari kombinasi antara keduanya atau kombinasi keduanya dengan substansi kimia yang lain. Sebagai contoh glikoprotein, lipoprotein, lipopolisakarida, dan nukleoprotein semuanya dapat menjadi antigen (13,16,17).

II.4 Antibodi

Antibodi adalah bahan larut digolongkan dalam protein yang disebut sebagai globulin dan sekarang dikenal sebagai imunoglobulin. Dua cirinya yang penting ialah spesifitas dan aktivitas biologik (13).

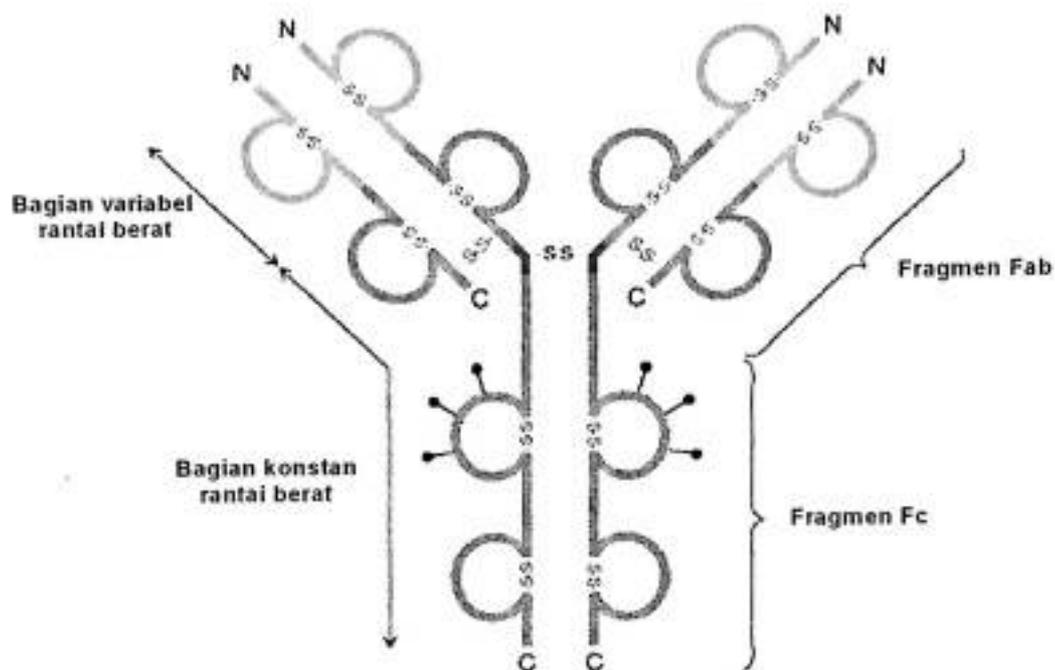
II.4.1 Imunoglobulin (4,16)

Imunoglobulin merupakan substansi pertama yang diidentifikasi sebagai molekul dalam serum yang mampu menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi. Imunoglobulin adalah glikoprotein yang diproduksi oleh sel plasma (sel B) yang dihasilkan dalam bentuk fraksi γ globulin pada serum. Imunoglobulin dibentuk dalam 2 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 sitenya* yang spesifik sekaligus merupakan jembatan yang menghubungkan antigen dengan sel-sel sistem imun atau mengaktivasi komplemen.

II.4.2 Struktur Imunoglobulin (4,13)

Struktur dasar imunoglobulin terdiri atas 2 rantai berat (H-chain) yang identik dan 2 rantai ringan (L-chain) yang juga identik. 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. Ada 2 jenis rantai ringan (*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 tersebut adalah dua kali rantai ringan.



Gambar 1. Struktur bangun dasar imunoglobulin (18)

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) yang tetap memiliki sifat antibodi disebut fragmen *Fab* (Fragmen *antigen binding*) yang dibentuk oleh domain terminal-N dan 1 fragmen yang hanya terdiri atas rantai berat saja disebut fragmen *Fc* (Fragmen *crystallizable*) yang dibentuk oleh domain terminal-C. fragmen *Fab* dengan *antigen binding site* berfungsi mengikat antigen. Karena itu susunan asam amino di bagian ini berbeda antara molekul imunoglobulin satu dengan yang lain dan sangat variabel sesuai dengan variabilitas antigen yang merangsang pembentukannya. Fragmen *Fc* tidak mempunyai kemampuan mengikat antigen tetapi dapat

bersifat sebagai antigen dan menentukan sifat biologi imunoglobulin bersangkutan, misalnya kemampuan imunoglobulin untuk melekat pada sel, fiksasi komplemen, distribusinya dalam tubuh dan lain-lain.

II.4.3 Fungsi Imunoglobulin (4)

Pada beberapa keadaan, antibodi melaksanakan fungsi proteksinya dengan menetralkan antigen secara langsung. Tetapi yang lebih sering adalah bahwa dalam melaksanakan fungsinya ia dibantu oleh sistem efektor lain, misalnya komplemen, fagosit dan sel sitotoksik.

Reseptor Fc (FcRI, FcRII, FcRIII) bersama-sama dengan reseptor komplemen CR1 dan CR3 mempunyai peran penting dalam menangkap dan menyingkirkan kompleks imun. Bentuk trans membran reseptor FcRIII pada makrofag dan sel NK diduga terlibat dalam merangsang sitotoksisitas selular. Disamping itu reseptor Fc yang terdapat pada beberapa sub populasi sel T dan sel B diduga terlibat dalam pengaturan produksi berbagai isotype antibodi walaupun mekanismenya yang pasti belum diketahui.

II.4.4 Klasifikasi Imunoglobulin (16)

Lima kelas imunoglobulin tubuh yang dikenal adalah IgG, IgM, IgA, IgD dan IgE. Kelima imunoglobulin ini menunjukkan perbedaan pada rantai beratnya. Rantai berat yang awalnya dipolakan dalam huruf Yunani diubah dalam huruf Romawi yang menunjukkan sifat dari tiap imunoglobulin; IgG memiliki ikatan γ , IgM memiliki ikatan μ , IgA memiliki ikatan α , IgD mempunyai ikatan δ , dan IgE membentuk ikatan ϵ .

IgG adalah satu-satunya imunoglobulin yang dapat melewati plasenta. IgM sebuah makroglobulin yang memiliki berat molekul terbesar dibandingkan kelas imunoglobulin yang lain. IgM merupakan tipe imunoglobulin yang paling banyak dan seringkali tidak eksklusif, disekresi selama respon primer antibodi. IgA adalah imunoglobulin yang banyak ditemukan dalam cairan sekret oleh karena itu sering disebut sebagai imunoglobulin sekretoris. IgD adalah imunoglobulin yang ditemukan dalam jumlah sangat sedikit. Peran biologiknya sebagai antibodi dalam reaksi hipersensitifitas terhadap penisilin.

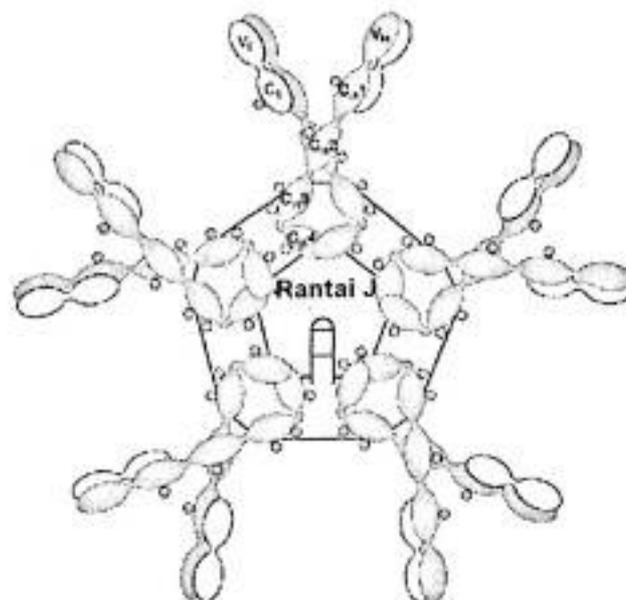
II.5 Imunoglobulin M (IgM)

II.5.1 Sifat Fisikokimia (17,18)

Konsentrasi normal dari Imunoglobulin M (IgM) pada manusia dewasa adalah 0,04 sampai 0,15 g per 100 ml dan itu merupakan 0,5 sampai 1,9% dari total protein serum. Sering kali ditemukan pada ekstrasvaskular. Rata-rata dihasilkan sekitar 0,4 mg per hari (untuk berat badan 70 kg) dan $t_{1/2}$ nya sekitar 5 hari. Mengandung karbohidrat sekitar 5 sampai 10%. IgM mempunyai berat molekul sekitar 900.000 dalton (koefisien sedimentasi 19S), ditemukan dalam jumlah kecil dalam bentuk dimer dan (bahkan dalam jumlah yang sangat kecil) trimer. Hal yang penting dari IgM manusia yaitu kelas dari euglobulinnya yang tidak larut pada konsentrasi garam yang rendah pada pH dekat titik isoelektriknya (pada kasus ini IgM pada pH 5,5 sampai 6,0).

II.5.2 Struktur dan Sifat (17,19,20)

Molekul IgM berbentuk pentamer yang melingkar terikat oleh ikatan disulfida. Ada rantai tambahan yang disebut rantai J atau rantai pengikat yang mengikat molekul IgM sebagai bentuk pentamer. Molekul IgM merupakan polimer lima sub unit yang masing-masing terdiri dari empat peptida, masing-masing subunit membawa domain C_H ekstra.



Gambar 2. Struktur bangun imunoglobulin M (IgM) (18)

IgM merupakan imunoglobulin yang berukuran paling besar. Karena ukuran yang besar ini, IgM terutama terdapat dalam intravaskular. Dilihat dari mikroskop elektron, IgM berbentuk seperti bintang, tetapi bila ia melekat pada antigen, bagian *Fab* akan melekat pada permukaan antigen sehingga bentuk molekul tampak seperti kepiting.

II.5.3 Aktivitas Biologi dan Immunologi (12,17)

Imunoglobulin M tidak melewati plasenta, mengaktifkan komplemen tetapi bukan faktor penyebab rheumatik berbeda dengan IgG. IgM seperti IgG dan imunoglobulin yang mengopsonisasi. IgM adalah tipe antibodi yang sangat efisien dalam mengaglutinasi. IgM dapat menyebabkan aglutinasi berbagai partikel dan fiksasi komplemen dengan efisiensi yang sangat tinggi yaitu 20 kali lebih efektif dalam aglutinasi dan 1000 kali lebih efektif dalam aktivitas penghancuran bakteri dibanding IgG. Antibodi IgM cenderung menunjukkan afinitas rendah terhadap antigen dengan determinan tunggal (hapten) karena molekul IgM multivalent, molekul IgM dapat menunjukkan afinitas yang tinggi terhadap antigen yang mempunyai banyak epitop.

II.6 Teknik Immunokimia

Antibodi merupakan komponen imunitas didapat yang melindungi tubuh terhadap infeksi mikroorganisme dan produknya yang toksik. Oleh itu interaksi antara antigen dan antibodi sangat penting dan banyak digunakan invitro untuk tujuan diagnostik. Interaksi antara antigen dan antibodi dapat menimbulkan berbagai akibat antara lain presipitasi (bila antigen merupakan bahan larut dalam garam fisiologik), aglutinasi (bila antigen merupakan bahan tidak larut/partikel-partikel kecil), netralisasi toksin dan aktivasi komplemen. Kebanyakan reaksi tersebut disebabkan oleh interaksi antara antigen multivalen dan antibodi yang sedikitnya memiliki 2 tempat ikatan per molekul (13,21).

II.6.1 Imunopresipitasi (4,17)

Uji presipitasi merupakan salah satu metode tertua untuk memberikan informasi kuantitatif mengenai jumlah kehadiran antibodi dalam suatu antiserum. Uji ini biasanya dilakukan dengan meningkatkan penambahan sejumlah antigen larut ke tabung yang mengandung sejumlah antiserum spesifik konstan.

Dalam menerapkan teknik ini perlu dipertimbangkan beberapa keterbatasan. Hal yang paling menentukan adalah spesifitas antiserum yang digunakan, dan larutan standar yang stabil dengan kadar yang pasti. Selain itu masih ada faktor-faktor lain yang berpengaruh misalnya suhu (0-37° C), pH (tidak kurang dari 6 dan lebih dari 8,6), dan molaritas larutan yang dipakai (sebaiknya larutan dengan molaritas 0,15 M) serta yang tidak boleh diabaikan adalah perbandingan antara konsentrasi antigen dan antibodi. Pembentukan presipitat terjadi apabila antara konsentrasi antigen dengan antibodi tercapai keseimbangan. Kondisi antigen berlebihan akan mengakibatkan melarutnya kembali kompleks yang terbentuk, sedangkan antibodi berlebihan menyebabkan kompleks antigen-antibodi tetap ada dalam larutan. Hal yang pertama disebut *postzone effect* dan yang kedua disebut *prozone effect*.

II.6.2 Aglutinasi (4,22)

Ikatan protein antigen yang multivalen dengan antibodi membentuk presipitat, sedangkan ikatan sel atau partikel yang lebih besar dengan antibodi terhadap antigen pada permukaan menyebabkan aglutinasi.

Reaksi aglutinasi terjadi dalam dua tahap, yaitu pertama-tama antibodi dengan salah satu reseptor pengikat antigen 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 dengan demikian terbentuklah gumpalan antigen-antibodi. Mudah dimengerti bahwa aglutinasi lebih mudah terjadi dengan antibodi kelas IgM yang berbentuk pentamer dibandingkan IgG atau IgA yang mempunyai reseptor pengikat antigen lebih sedikit.

II.6.3 Hemaglutinasi Pasif (23)

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 dan antibodi.

Langkah pertama dari cara ini yaitu menginduksi sel darah merah dengan menggabungkan antigen ke dalamnya. Beberapa antigen polisakarida dapat diabsorpsi dengan stabil pada permukaan sel darah merah. Untuk antigen protein, larutan asam tannik atau krom klorida dapat digunakan untuk menggabungkan antigen pada sel darah merah.

Langkah terakhir yaitu dengan menambahkan sel darah merah yang telah disensitasi tadi ke dalam pengenceran bertingkat dari antibodi.

Selanjutnya pengenceran tertinggi dari larutan yang masih menunjukkan reaksi aglutinasi didefinisikan sebagai titer dari antibodi.

II.7 Uraian Hewan Coba

II.7.1 Klasifikasi Kelinci

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Anak filum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Anak kelas	: Theria
Bangsa	: Logomorpha
Suku	: Oryctolagidae
Marga	: Oryctolagus
Jenis	: <i>Oryctolagus cuniculus</i>

II.7.2 Karakteristik (24)

Kelinci pada umumnya tidak berbahaya bila didekati dan dipegang lembut, sehingga banyak dipakai sebagai salah satu hewan percobaan. Kelinci dewasa yang sehat memiliki bobot badan 2,0 kg-5,0 kg (jantan), dan 2,0 kg-6,0 kg (betina). Luas permukaan tubuh kelinci 2,5 kg : 1270,0 cm². Lama kehamilan pada kelinci betina mencapai 29-35 hari dengan melahirkan 4-10 anak. Volume darah normal dari kelinci dewasa 57-65 ml/kg; 4-7 x 10⁶/mm³ (sel darah merah); 9-11 x 10³/mm³ (sel darah putih). Kebutuhan makanan kelinci terdiri atas 16-20% serat kasar, 14-18% protein kasar dan tidak lebih dari 2500 kkal/hari. Kebutuhan air

minum mencapai 10 ml dan makanan sekitar 5 g untuk setiap 100 g bobot badan/hari. Kelinci harus ditangani dengan tenang dan selalu memperhatikan cara pengekangan pada saat pemindahannya.



BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan yang digunakan

Alat-alat yang digunakan antara lain cawan petri, *freezer*, gelas kimia 100 ml, gelas ukur 25 ml, jarum suntik, *juicer*, kandang individu, kateter, labu tentukur 100,0 ml, lemari pendingin, pengering beku, pipet mikron, sentrifuge (*Hettich*), *shaker*, spoit 1 ml dan 20 ml, sumur mikrotiter tipe U (*Well plate* 96 lubang), timbangan analitik (*Dragon 303*), timbangan gram (*O'hauss*).

Bahan-bahan yang dibutuhkan antara lain air suling, etanol 70%, Betadin[®], umbi bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*), kapas, larutan PBS (Phospat Buffered Saline) dan sel darah merah domba 2% v/v.

III.2 Penyiapan Sampel

III.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) segar diambil dari Desa Kalukubula Kecamatan Sigibiromaru Kabupaten Donggala Kota Palu, Sulawesi Tengah.

III.2.2 Pengolahan Sampel

Umbi dibersihkan, kemudian dipisahkan dari kulitnya. Dicuci dengan air mengalir lalu ditiriskan.

III.2.3 Pembuatan Jus

Sebanyak 500 g umbi bawang merah dimasukkan ke dalam mesin *juicer*. Jus bawang merah diperoleh sebanyak 160 ml kemudian diliofilisasi.

III.2.4 Liofilisasi Jus

Jus bawang merah dituang ke dalam cawan petri, tiap cawan diisi sebanyak 13 ml jus. Kemudian dimasukkan ke dalam *freezer* selama 24 jam, selanjutnya dimasukkan ke dalam alat liofilisasi hingga jus menjadi kering.

III.2.5 Pembuatan Sediaan Uji

Sediaan uji dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 2,5% b/v, 5% b/v dan 7,5% b/v. Untuk membuat sediaan uji dengan konsentrasi 2,5% b/v, 2,5 g hasil liofilisasi jus bawang merah dilarutkan dalam air suling kemudian dicukupkan hingga 100 ml. Sediaan uji dengan konsentrasi 5% b/v dan 7,5% b/v dibuat dengan cara yang sama dengan jumlah masing-masing 5 g dan 7,5 g.

III.3 Pengujian Aktivitas IgM pada Hewan Coba

III.3.1 Pembuatan Phosphat Buffered Saline (PBS) (23)

Phosphat Buffered Saline (PBS) dibuat dengan cara mencampurkan larutan I yaitu larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1,3 g/l dan NaCl 8,3 g/l sebanyak 280 ml dengan larutan II yaitu larutan Na_2HPO_4 1,42 g/l dan NaCl 8,5 g/l sebanyak 720 ml sampai diperoleh PBS dengan pH 7,2.

III.3.2 Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah Domba (SDMD) 2% v/v (23)

Darah domba di tampung dalam tabung bersih dan kering yang berisi serbuk EDTA sebagai antikoagulan. Untuk 1 ml darah domba, diperlukan 1 mg EDTA. Sel darah merah domba (SDMD) dipisahkan dari plasmanya dengan pemusingan pada kecepatan 1500 rpm. Selanjutnya sel darah merah dicuci dengan menambahkan PBS (Phosphat Buffered saline) dalam jumlah besar dan tabung berisi suspensi tersebut dibolak balik beberapa kali dan dipusingkan kembali. Lakukan pencucian paling sedikit 3 kali. Setelah selesai, PBS dibuang dan diperoleh SDMD 100%. Kemudian pada SDMD 100% tadi tambahkan PBS dengan volume sama hingga diperoleh suspensi SDMD 50% v/v. Siapkan antigen yang akan digunakan dengan mengencerkan 0,4 ml suspensi SDMD 50% v/v dengan 9,6 ml PBS sehingga diperoleh 10 ml suspensi antigen (SDMD 2% v/v).

III.3.3 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Coba (24)

Hewan uji yang digunakan adalah kelinci jantan (*Oryctolagus cuniculus*) yang sehat dengan bobot badan 1,5-2 kg, sebanyak 4 ekor yang diberi perlakuan berbeda-beda.

III.3.4 Uji Aktivitas IgM Awal (Hemaglutinasi) (25)

Sebelum diimunisasi, semua kelinci diambil darahnya melalui vena telinga sebanyak 2 ml. Diletakkan dalam suhu kamar selama 1-2 jam, lalu disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm untuk memperoleh serum. Serum yang diperoleh selanjutnya diencerkan secara

double dilution dengan tingkat perbandingan 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, dan 1/512 dengan PBS, sebanyak 50 µl untuk setiap sumur pada piring mikrotiter (*Well plate* 96 lubang) selanjutnya pada setiap sumur ditambahkan 50 µl suspensi SDMD 2% v/v lalu dihomogenkan (menggunakan shaker) selama 5 menit. Selanjutnya diinkubasi pada 37°C selama 60 menit dan didiamkan semalam pada suhu kamar.

III.3.5 Perlakuan Terhadap Hewan Coba

a. Hewan I

Kelinci jantan diimunisasi dengan 1 ml/ekor suspensi sel merah darah domba 2% v/v secara intraperitoneal. Kemudian diberi air suling dengan volume 20 ml/2 kg bobot badan secara oral setiap hari hingga hari kelima setelah imunisasi. Pada hari keenam, darah kelinci diambil secara intravena melalui telinga.

b. Hewan II

Kelinci jantan diimunisasi dengan 1 ml/ekor suspensi sel merah darah domba 2% v/v secara intraperitoneal. Kemudian diberi sediaan uji 2,5% b/v dengan volume 20 ml/2 kg bobot badan secara oral setiap hari hingga hari kelima setelah imunisasi. Pada hari keenam, darah kelinci diambil secara intravena melalui telinga.

c. Hewan III

Kelinci jantan diimunisasi dengan 1 ml/ekor suspensi sel merah darah domba 2% v/v secara intraperitoneal. Kemudian diberi sediaan uji 5% b/v dengan volume 20 ml/2 kg bobot badan secara oral setiap hari

hingga hari kelima setelah imunisasi. Pada hari keenam, darah kelinci diambil secara intravena melalui telinga.

d. Hewan IV

Kelinci jantan diimunisasi dengan 1 ml/ekor suspensi sel merah darah domba 2% v/v secara intraperitoneal. Kemudian diberi sediaan uji 7,5% b/v dengan volume 20 ml/2 kg bobot badan secara oral setiap hari hingga hari kelima setelah imunisasi. Pada hari keenam, darah kelinci diambil secara intravena melalui telinga.

III.3.6 Pengambilan Sampel Darah Hewan Coba

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

III.3.7 Uji Hemaglutinasi (25)

Serum yang diperoleh selanjutnya diencerkan secara *double dilution* dengan tingkat pengenceran 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, dan 1/512 dengan PBS, sebanyak 50 µl untuk setiap sumur pada piring mikrotiter (*Well plate* 96 lubang) selanjutnya pada setiap sumur ditambahkan 50 µl suspensi SDMD 2% v/v lalu dihomogenkan (menggunakan shaker) selama 5 menit. Selanjutnya diinkubasi pada 37°C selama 60 menit dan didiamkan semalam pada suhu kamar. Dilakukan pengamatan pengenceran tertinggi dari setiap serum darah kelinci jantan yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba.

III.4 Pengumpulan dan Analisis Data

Data diperoleh dari hasil pengamatan pengenceran tertinggi serum darah kelinci yang masih menunjukkan aglutinasi sel darah merah domba pada sumur mikrotiter. Selanjutnya dianalisis secara statistika dengan menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) .

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN



IV.1 Hasil Penelitian

Jus bawang merah yang diperoleh dari 500 g umbi bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) yaitu :

- Jumlah jus yang dihasilkan sebanyak 160 ml
- Jumlah hasil liofilisasi sebanyak 138 g.

Data uji aktivitas imunoglobulin M (IgM) sebelum dan setelah pemberian jus bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) 2,5% b/v, 5% b/v, dan 7,5% b/v berdasarkan titer imunoglobulin M (IgM) pada kelinci jantan 6 hari setelah diberikan SDMD 2% v/v adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Data Uji Aktivitas Imunoglobulin M (IgM) Kelinci Jantan Sebelum Imunisasi dan Pemberian Jus Bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*)

Baris	Hewan	Titer Imunoglobulin M (IgM)			
		I	II	III	IV
1		1/8	1/16	1/8	1/8
2		1/8	1/8	1/8	1/16
3		1/4	1/4	1/4	1/8

Tabel 2. Data Uji Aktivitas Immunoglobulin M (IgM) Kelinci Jantan Setelah Pemberian Jus Bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*)

Baris \ Perlakuan	Titer Immunoglobulin M (IgM)			
	Kontrol negatif	Jus bawang merah		
		2,5% b/v	5% b/v	7,5% b/v
1	1/16	1/64	1/64	1/128
2	1/32	1/64	1/64	1/128
3	1/32	1/64	1/128	1/64

IV.2 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk menguji efek jus bawang merah terhadap sistem pertahanan tubuh menggunakan parameter antibodi immunoglobulin sub bagian immunoglobulin M (IgM). IgM merupakan sistem imun spesifik yang terdapat dalam sistem sirkulasi (humoral) sehingga memungkinkan penggunaan serum pada pengujiannya. Perbedaan sifat sistem imun spesifik dari sistem imun nonspesifik dalam hal resistensi terhadap antigen, dimana terjadi peningkatan resistensi akibat infeksi berulang, menjadi titik tolak awal penggunaan sistem ini sebagai parameter. Secara fisiologi, IgM merupakan immunoglobulin pertama yang terbentuk pada respon imun primer sehingga menjadi penanda terjadinya infeksi dini dan merupakan bahan pengaktif komplemen melalui jalur klasik yang berperan dalam proses fagositosis dan opsonisasi.

Injeksi suatu substansi asing ke dalam tubuh hewan yang mampu membuat respon imun akan menghasilkan antibodi spesifik yang muncul dalam serum sesudah beberapa waktu berlangsung. Imunogen tersebut akan menyebabkan pengiriman sinyal pada sel-sel yang bertugas untuk membuat antibodi. Antigen yang digunakan dalam penelitian ini adalah sel darah merah domba (SDMD). 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.

Pengerjaannya diawali dengan mengukur aktivitas IgM awal dari tiap hewan. Selanjutnya semua hewan diberikan antigen SDMD secara intraperitoneal dan dilanjutkan dengan pemberian air suling untuk kontrol dan jus bawang merah 2,5% b/v, 5% b/v dan 7,5% b/v untuk masing-masing hewan selama 5 hari berturut-turut dan pada hari keenam setelah pemberian SDMD, darah dari tiap hewan diambil melalui vena marginalis pada telinga.

IgM akan terbentuk mulai dari hari pertama dan mencapai puncaknya antara hari kelima hingga hari ketujuh. Infeksi berulang menggunakan antigen sel darah merah domba memfungsikan sel memori yang mengenali SDMD sebagai suatu antigen asing dan segera ditangkap oleh antibodi. Oleh karena antigen SDMD merupakan bahan tidak larut dan berupa partikel-partikel menyebabkan interaksi antigen-antibodi yang terbentuk berupa aglutinasi. Gumpalan yang terbentuk antara antigen dan

anti serum spesifik akan bersatu dan akhirnya mengendap sebagai gumpalan-gumpalan besar dan mudah terlihat dengan cairan di atasnya 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. Reaksi aglutinasi dibantu oleh suhu yang tinggi ($37 - 56^{\circ}\text{C}$) dan oleh gerakan yang menambah kontak antigen dan antibodi (misalnya mengocok, mengaduk dan memusing) dan berkumpulnya gumpalan memerlukan garam-garam.

Berdasarkan analisis statistika dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Analisis Sidik Ragam (ASR) memperlihatkan bahwa pemberian jus bawang merah memberikan efek yang sangat nyata terhadap peningkatan aktivitas Imunoglobulin M (IgM), yang dapat dilihat dari nilai F hitung yang lebih besar dari F tabel.

Analisis antar perlakuan pada data titer Imunoglobulin M (IgM) menggunakan uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD) antara perlakuan kontrol negatif dan perlakuan dengan pemberian jus bawang merah pada konsentrasi 2,5% b/v, 5% b/v dan 7,5% b/v memperlihatkan perbedaan yang nyata (sangat signifikan), berarti terjadi peningkatan aktivitas Imunoglobulin M (IgM) karena terjadi peningkatan titer. Tetapi, analisis antar perlakuan pada konsentrasi 2,5% b/v, 5% b/v dan 7,5% b/v menunjukkan tidak terjadi perbedaan yang nyata (non signifikan).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data secara statistika diperoleh hasil yaitu pemberian jus bawang merah dengan konsentrasi 2,5% b/v, 5% b/v dan 7,5% b/v dapat meningkatkan aktivitas imunoglobulin M (IgM) pada kelinci jantan yang sangat berbeda nyata dengan efek yang diperlihatkan oleh kontrol negatif. Peningkatan aktivitas IgM antara ketiga konsentrasi tidak berbeda nyata.

VI.2 Saran

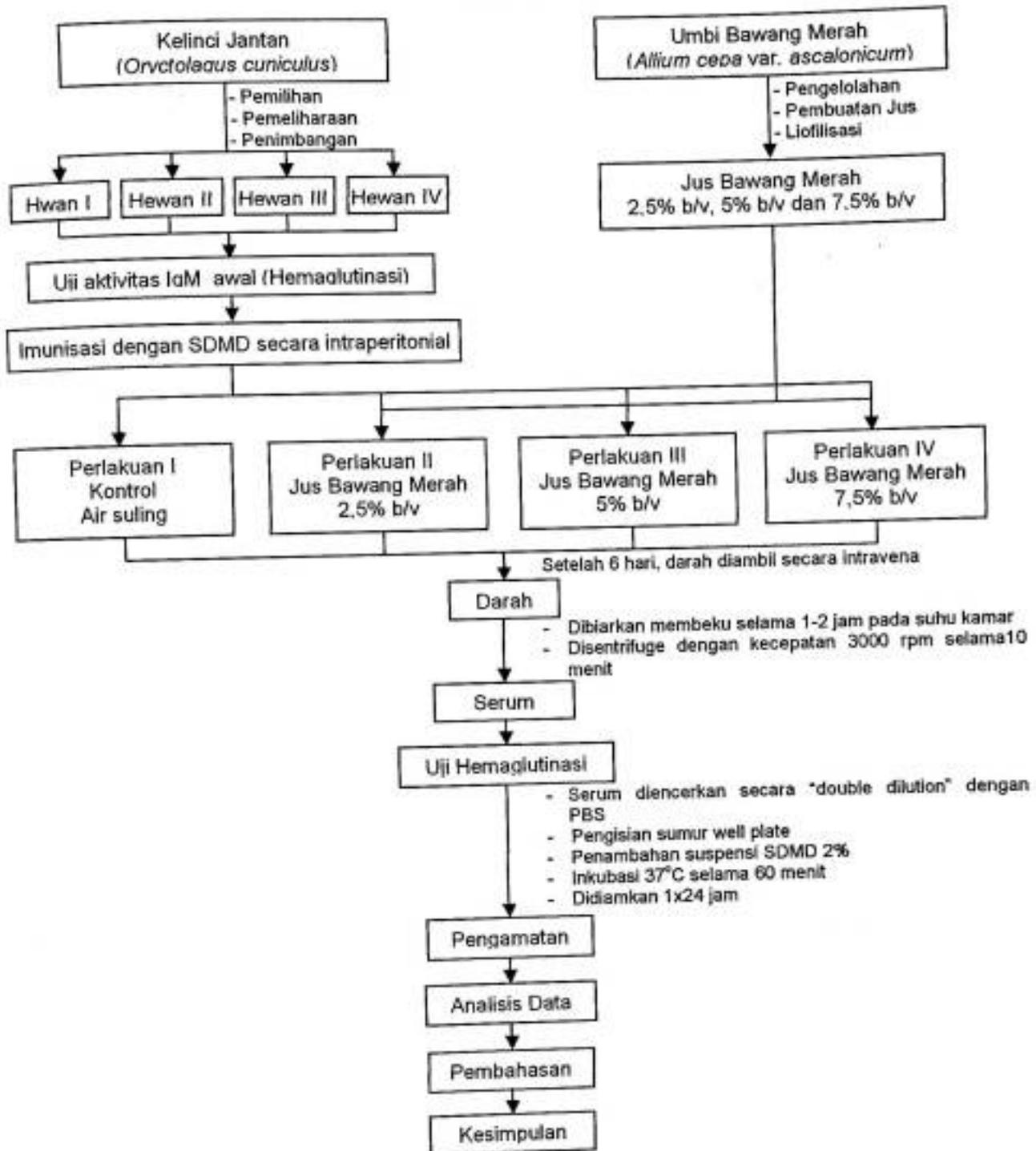
Perlu dilakukan uji lanjutan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dari jus bawang merah yang dapat meningkatkan aktivitas imunoglobulin M (IgM).

DAFTAR PUSTAKA

1. Bratawidjaja, K. G. 1996. *Imunologi Dasar*, Edisi III. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 1.
2. Ganiswarna, G. S. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Bagian Farmakologi. Fakultas Kedokteran Indonesia. Jakarta. Hal. 702.
3. Guyton, A. 1995. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Edisi III. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal. 60-61.
4. Kresno, S. 1996. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi III. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 4, 11, 26-29, 32, 271.
5. Siregar, Kamarullah, (2007), "*Mengupas Kehebatan Obat Herbal Tradisional*", http://www.itb.ac.id/news/itb_berita_1152.pdf, diakses 20 September 2007.
6. Anonim, (2005), "Plant Profile : *Allium cepa* var. *ascalonicum*", www.plants.usda.gov/cgi_bin/plant_profile.cgi?symbol=alas2, diakses 5 Agustus 2007.
7. Sarwono, (2007), "Tanaman Obat Indonesia : *Bawang Merah*", http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/dep_kes/1-012.pdf, diakses 2 November 2007.
8. Anonim, (2007), "*Varietas Tanaman Bawang Merah di Indonesia*", <http://sains4ever.blogspot.com/2008/03/bawang-merah-allium-cepa-L-var-ascalonicum.html>, diakses 5 Agustus 2007.
9. Wibowo, Singgih. 2006. *Budi Daya Bawang*. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal. 87,93, 94.
10. Rahayu, Estu dan Nur Berlian. 2007. *Bawang Merah*. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal. 6, 14.
11. Setiadi, R dan Sarwono B. 2007. *Tanaman Obat Keluarga*. PT. Gramedia. Jakarta. Hal. 19, 23.
12. Bratawidjaja, K. 2004. *Imunologi Dasar*, Edisi II, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. Hal. 19,78, 82.
13. Barrer, J. 1988. *Textbook of Immunology*, Fifth edition, C.V. Mosby Company, USA. Hal. 26.

14. Rantam, A.F. 2003. *Metode Immunologi*. Airlangga University Press. Surabaya. Hal 9.
15. Clancy, J. 2000. *Basic Concepts in Immunology*, McGraw-Hill Companies, Singapore. Hal. 19, 26.
16. Rose, N. 1973. *Principles of Immunology*, Maacmillan Publishing CO, New york. Hal. 12, 124, 136.
17. Roitt, I. 1994. *Essential Immunology*, Eight edition, Black Well Scientific Publications, London. Hal. 43.
18. Danial, (2004), "Antibodi", <http://pkukmweb.ukm.my/~danial/Imun11.html>, diakses 2 November 2007.
19. Handojo, I. 2003. *Pengantar Imunoasai Dasar*. Airlangga University Press. Surabaya. Hal. 34.
20. Wahab, S. dan Madarina Julia. 2002. *Sistem Imun, Imunisasi, dan Penyakit Imun*. Widya Medika. Jakarta. Hal. 19.
21. Paul, W.A. 2003. *Fundamental Immunology*. Fifth Edition. Lippincott Williams and Willans. Philadelphia-USA. Hal. 1326.
22. Kimbal, J.W. 1986. *Introduction to Immunology*, second edition, Macmillan Publishing Company, New York. Hal. 96, 98.
23. Winamo, Wien dan Sundari D, (2000), "Penelitian Aktivitas Biologik Infus Benalu Teh (*Scurulla atropurpurea* BL. Danser) Terhadap Aktivitas Sistem Imun Mencit", <http://www.kalbefarma.com/files/cdk/files/06.Penelitian-Aktivitas-Biologik.InfusBenaluTeh127.html>, diakses 25 November 2007.
24. Malole, M.B.M., dan Pramono, C.S.U, 1989. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium*. Institut Pertanian Bogor. Hal. 24.
25. Ma'at, S, 2004. *Penelitian dan pengembangan Produk Fitofarmaka dari Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) untuk Terapi Demam Berdarah Dengue Berdasarkan Data Preklinik, Toksisitas dan Percobaan Klinik*. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal. 58.
26. Ali, Kemas H. 2008. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*. Edisi III. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. Hal 41.

LAMPIRAN 1



Gambar 3. Skema Kerja Uji Efek Jus Bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) Terhadap Aktivitas Immunoglobulin M (IgM) Kelinci Jantan (*Oryctolagus cuniculus*)

LAMPIRAN 2. ANALISIS STATISTIKA AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN M (IgM) KELINCI JANTAN BERDASARKAN TITER IgM SEBELUM IMUNISASI DAN PEMBERIAN JUS BAWANG MERAH (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) DENGAN MENGGUNAKAN RANCANGAN ACAK LENGKAP (RAL)

Tabel 3. Data titer imunoglobulin M (IgM) setelah ditransformasi dengan: $[2\log(\text{titer})] + 1$

Hewan Baris	I	II	III	IV	Jumlah total
1	0,806	1,408	0,806	0,806	
2	0,806	0,806	0,806	1,408	
3	0,204	0,204	0,204	0,806	
Jumlah	1,816	2,418	1,816	3,02	9,07
Rata-rata	0,605	0,806	0,605	1,006	3,002

Analisis Sidik Ragam (ASR)

A. Sumber Keragaman

Model : $Y = \mu + \sigma + \zeta$

Dimana : Y = Total hasil percobaan

μ = Nilai rata-rata harapan

ζ = Pengaruh kesalahan/galat

Sumber Keragaman adalah :

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

B. Perhitungan Derajat Bebas (Db)

1. $DbT = (r.t) - 1 = (3.4) - 1 = 11$
2. $DbP = t - 1 = 4 - 1 = 3$
3. $DbG = DbT - DbP = 11 - 3 = 8$

C. Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

$$FK = \frac{Tij^2}{r.t} = \frac{9,07^2}{3.4} = \frac{82,26}{12} = 6,85$$

$$\begin{aligned} 1. JKT &= T(Yij^2) - FK \\ &= (0,806^2 + 0,806^2 + \dots + 0,806^2) - 6,85 \\ &= 8,6372 - 6,85 \\ &= 1,787 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. JKP &= \frac{TP^2}{r} - FK \\ &= \frac{(1,816^2 + 2,418^2 + \dots + 3,02^2)}{3} - 6,85 \\ &= 7,187 - 6,85 \\ &= 0,337 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 1,787 - 0,337 \\
 &= 1,45
 \end{aligned}$$

D. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

$$1. \text{KTP} = \frac{\text{JKP}}{\text{DbP}} = \frac{0,337}{3} = 0,112$$

$$2. \text{KTG} = \frac{\text{JKG}}{\text{DbG}} = \frac{1,45}{8} = 0,181$$

E. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$\text{FhP} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTG}} = \frac{0,112}{0,181} = 0,618$$

Tabel 4. Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Rasio perubahan aktivitas Immunoglobulin M (IgM)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fh	Ft	
					5%	1%
Perlakuan (P)	3	0,337	0,112	0,618 ^{Ns}	4,07	7,59
Galat (G)	8	1,45	0,181			
Total (T)	11	1,787				

Keterangan : (^{Ns}) Tidak berbeda nyata karena $F_h < F_t$. Artinya tidak ada perbedaan aktivitas immunoglobulin M (IgM) awal dari tiap hewan perlakuan.

LAMPIRAN 3. ANALISIS STATISTIKA AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN M (IgM) KELINCI JANTAN BERDASARKAN TITER IgM SETELAH PEMBERIAN JUS BAWANG MERAH (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) DENGAN MENGGUNAKAN RANCANGAN ACAK LENGKAP (RAL) DAN UJI BEDA NYATA JARAK DUNCAN (BNJD)

Tabel 5. Data titer imunoglobulin M (IgM) setelah ditransformasi dengan: $[2\log(\text{titer})] + 1$

Perlakuan Baris	Kontrol negatif	Jus bawang merah			Jumlah total
		2,5% b/v	5% b/v	7,5% b/v	
1	1,408	2,612	2,612	3,214	
2	2,010	2,612	2,612	3,214	
3	2,010	2,612	3,214	2,612	
Jumlah	5,428	7,836	8,438	9,040	30,742
Rata-rata	1,809	2,612	2,812	3,013	10,246

Analisis Sidik Ragam (ASR)

A. Sumber Keragaman

$$\text{Model : } Y = \mu + \sigma + \zeta$$

Dimana : Y = Total hasil percobaan

μ = Nilai rata-rata harapan

ζ = Pengaruh kesalahan/galat

Sumber Keragaman adalah :

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

B. Perhitungan Derajat Bebas (Db)

1. $DbT = (r.t)-1 = (3.4) - 1 = 11$
2. $DbP = t - 1 = 4 - 1 = 3$
3. $DbG = DbT - DbP = 11 - 3 = 8$

C. Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

$$FK = \frac{T_{ij}^2}{r.t} = \frac{30,742^2}{3.4} = \frac{945,070}{12} = 78,755$$

$$\begin{aligned} 1. \quad JKT &= T(Y_{ij}^2) - FK \\ &= (1,408^2 + 2,010^2 + \dots + 2,612^2) - 78,755 \\ &= 81,987 - 78,755 \\ &= 3,232 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \quad JKP &= \frac{TP^2}{r} - FK \\ &= \frac{(5,428^2 + 7,836^2 + \dots + 9,04^2)}{3} - 78,755 \\ &= 81,262 - 78,755 \\ &= 2,507 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned}
 3. \text{ JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 3,232 - 2,507 \\
 &= 0,725
 \end{aligned}$$

D. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

$$3. \text{KTP} = \frac{\text{JKP}}{\text{DbP}} = \frac{2,507}{3} = 0,835$$

$$4. \text{KTG} = \frac{\text{JKG}}{\text{DbG}} = \frac{0,725}{8} = 0,090$$

E. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$\text{FhP} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTG}} = \frac{0,835}{0,090} = 9,277$$

Tabel 6. Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Rasio perubahan aktivitas Immunoglobulin M (IgM)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fh	Ft	
					5%	1%
Perlakuan (P)	3	2,507	0,835	9,278**	4,07	7,59
Galat (G)	8	0,725	0,090			
Total (T)	11	3,232				

Keterangan : (**) Sangat berbeda nyata karena $F_h > F_t$, H_0 ditolak, hipotesa (H_1) diterima, yaitu ada pengaruh pemberian jus bawang merah terhadap aktivitas Immunoglobulin M (IgM) kelinci jantan.

Nilai tengah (y)

$$\begin{aligned} y &= \frac{T_{ij}}{r.t} \\ &= \frac{30,742}{3.4} \\ &= 2,561 \end{aligned}$$

Koefisien Keragaman (KK)

$$\begin{aligned} KK &= \frac{\sqrt{KTG}}{y} \times 100\% \\ &= \frac{\sqrt{0,090}}{2,561} \times 100\% \\ &= 11,71\% \end{aligned}$$

Keterangan : Jika KK besar (minimal 10% pada kondisi homogen atau minimal 20% pada kondisi heterogen) uji lanjutan yang sebaiknya digunakan adalah Uji Duncan karena uji ini dapat dikatakan yang paling teliti (26).

Kesimpulan : Dari hasil analisis statistik diperoleh bahwa ada pengaruh pemberian jus bawang merah terhadap aktivitas Immunoglobulin M (IgM) kelinci jantan. Dengan nilai KK yang besar (11,71%) maka analisis statistik dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD)

Analisis Lanjutan dengan Uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD)

$$KTG = 0,090$$

$$S_{\bar{y}} = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,090}{3}}$$

$$= 0,17$$

$$JNTD_{\alpha} = P_{\alpha (p.v)} \times S_{\bar{y}}$$

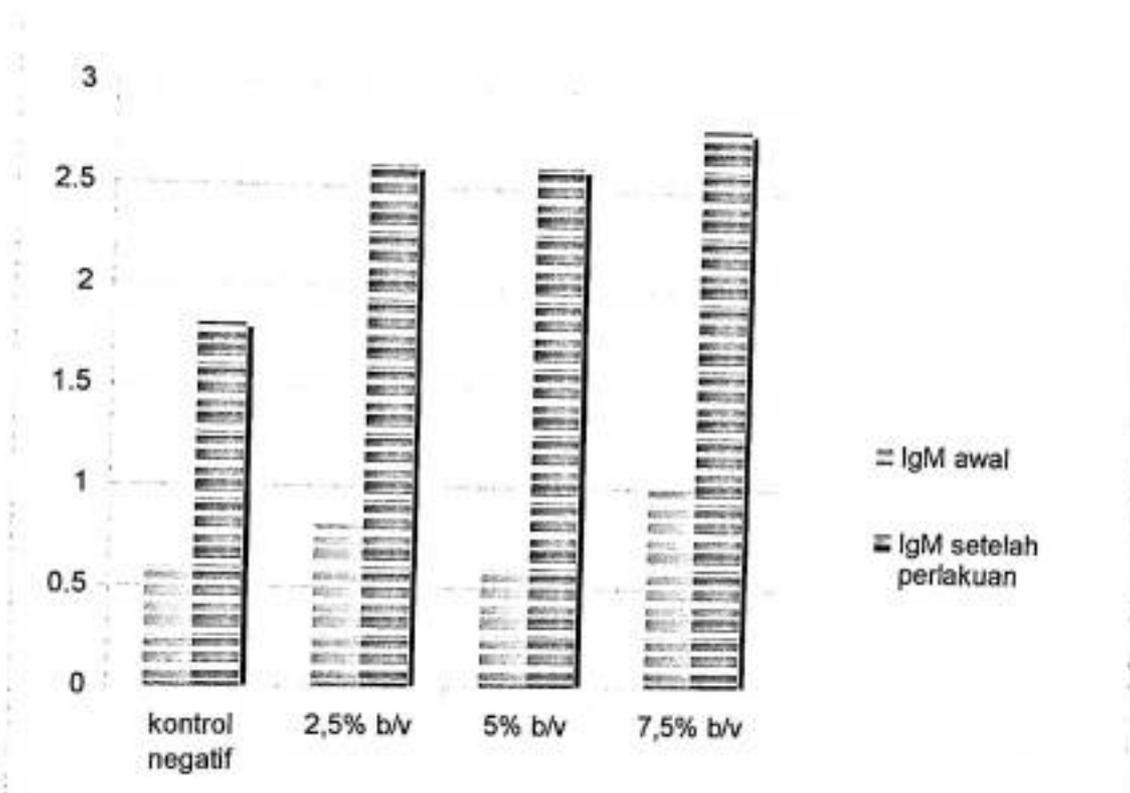
Tabel 7. Hasil analisis Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND)

Perlakuan	rata-rata	Beda nyata pada jarak P			
		Kontrol negatif	2,5% b/v	5% b/v	7,5% b/v
Kontrol negatif	1,809	-	-	-	-
2,5% b/v	2,612	0,803**	-	-	-
5% b/v	2,812	1,003**	0,2 ^{Ns}	-	-
7,5% b/v	3,013	1,204**	0,401 ^{Ns}	0,201 ^{Ns}	-
P5%		3,26	3,39	3,47	
BJND5%		0,554	0,576	0,59	
P1%		4,24	5,00	5,14	
BJND1%		0,72	0,85	0,873	

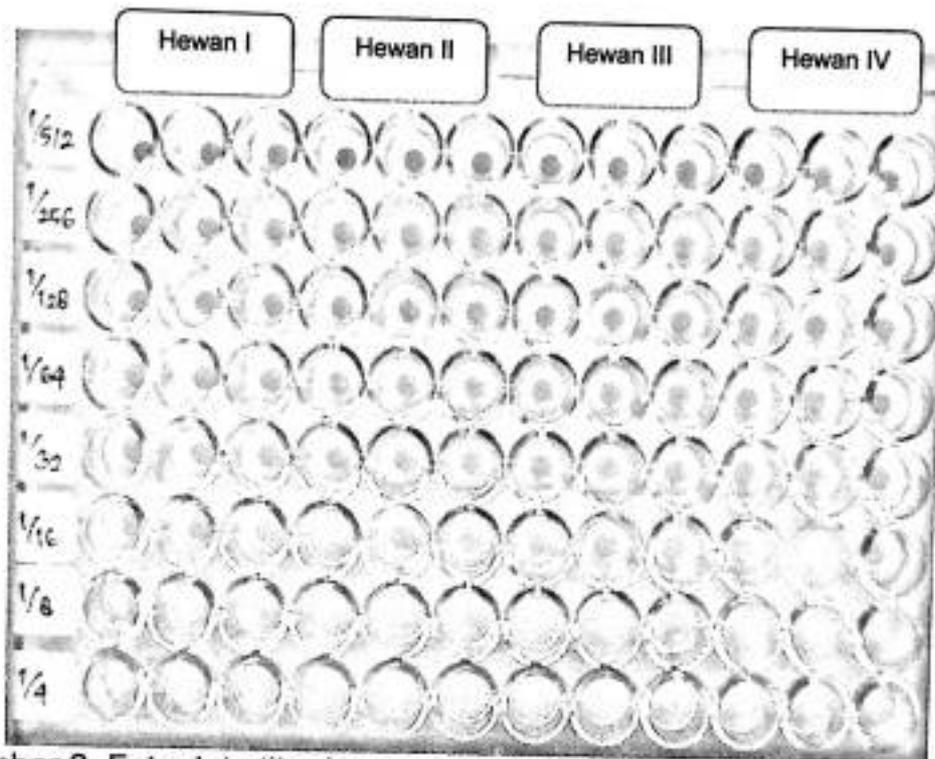
Dari tabel diatas diperoleh bahwa pemberian jus bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) dengan konsentrasi 2,5% b/v, 5% b/v dan 7,5% b/v

memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap peningkatan aktivitas imunoglobulin M (IgM) pada kelinci jantan.

Keterangan : ** = Sangat signifikan
Ns = Non signifikan



Gambar 1. Histogram Aktivitas Imunoglobulin M (IgM) terhadap Konsentrasi Jus bawang merah (*Allium cepa* var. *ascalonicum*)



Gambar 2. Foto data titer Imunoglobulin M (IgM) awal pada sumur mikrotiter

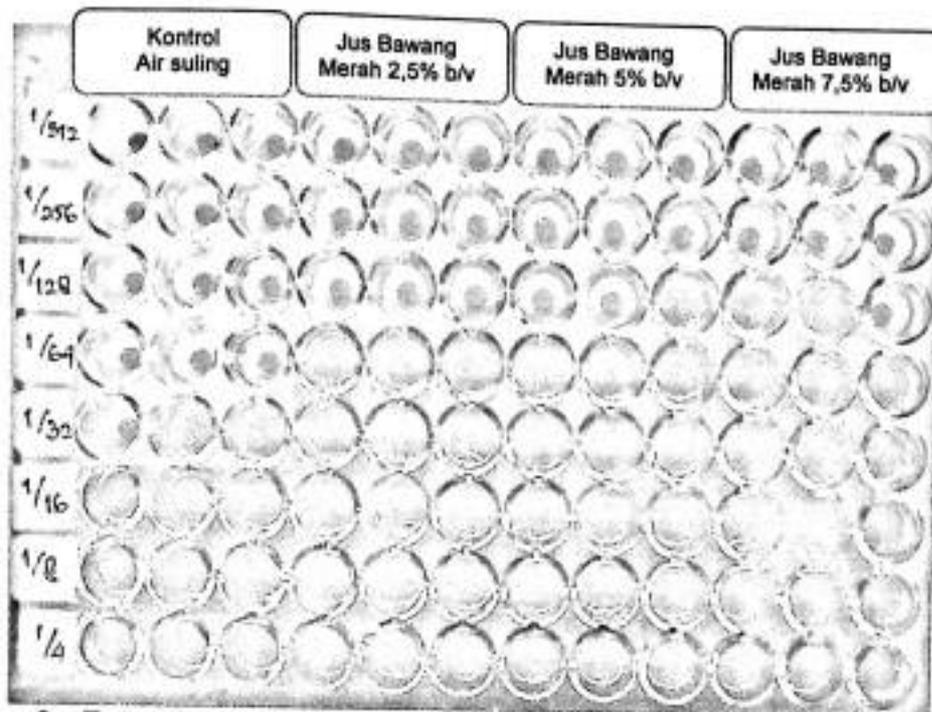
Interpretasi hasil berdasarkan Hemaglutinasi yang teramati adalah :

	Hewan I			Hewan II			Hewan III			Hewan IV		
1/512	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/256	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/128	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/16	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	X	-
1/8	X	X	-	X	X	-	X	X	-	X	X	X
1/4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Keterangan :

X : Terjadi aglutinasi

- : Tidak terjadi aglutinasi



Gambar 3. Foto data titer Imunoglobulin M (IgM) setelah perlakuan pada sumur mikrotiter

Interpretasi hasil berdasarkan Hemaglutinasi yang teramati adalah :

	Kontrol negatif			Jus bawang merah 2,5% b/v			Jus bawang merah 5% b/v			Jus bawang merah 7,5% b/v		
1/512	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/256	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/128	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X	X	-
1/64	-	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X
1/32	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
1/16	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
1/8	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
1/4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Keterangan :

- X : Terjadi aglutinasi
 - : Tidak terjadi aglutinasi