

**EFEK JUS DAUN PARE (*Momordica charantia* Linn.)
TERHADAP AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN M (IgM)
DAN IMUNOGLOBULIN G (IgG)
MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)**

**ARIE ARIZANDI KURNIANTO
N111 06 024**



2 - 3 - 10

farmasi

11/10

11/10

SKR-F10

KUR

e

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2010**

**EFEK JUS DAUN PARE (*Momordica charantia* Linn.) TERHADAP
AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN M (IgM) DAN IMUNOGLOBULIN G (IgG)
MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)**

SKRIPSI

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


**ARIE ARIZANDI KURNIANTO
N111 06 024**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2010**

**EFEK JUS DAUN PARE (*Momordica charantia* Linn.) TERHADAP
AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN M (IgM) DAN IMUNOGLOBULIN G (IgG)
MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)**

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,


Drs. H. Kus Haryono, M.S., Apt.
NIP. 19501126 197903 1 002

Pembimbing Pertama


Mufidah, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19730309 199903 2 002

Pada tanggal Februari 2010

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Allah *Subhanahu Wata'ala* yang telah melimpahkan berkah dan rahmat-Nya sehingga penulis mampu merampungkan penyusunan skripsi ini sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar kesarjanaan pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Salawat dan salam penulis haturkan kepada Rasulullah Muhammad SAW. yang diutus oleh Allah SWT. Untuk menyempurnakan akhlak yang mulia pada seluruh aspek kehidupan bagi seluruh umat manusia.

Skripsi ini dapat penulis selesaikan berkat bantuan dari berbagai pihak baik langsung maupun tidak langsung. Karenanya patut rasanya penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada semua pihak, Bapak Drs. H. Kus Haryono, M.S., Apt. sebagai pembimbing utama dan Ibu Mufidah, S.Si., M.Si., Apt sebagai pembimbing pertama, atas sumbangsih saran, waktu, dan perhatian yang telah beliau berikan kepada penulis sejak dimulainya penelitian hingga selesainya skripsi ini. Terima kasih juga penulis haturkan kepada Bapak Drs. A. Ilham Makhmud, Dip.Sc., Apt., selaku penasehat akademik yang telah mencurahkan perhatian dan bantuannya kepada penulis.

Karya ini khusus penulis persembahkan kepada keluarga, karena semua ini takkan ada artinya tanpa dukungan, cinta dan kasih sayang

yang selalu tercurah dari Ayahanda Maryanto Jamhuri, S.Ag. dan Ibunda Mukarramah, S.Si., Apt. serta seluruh keluarga.

Juga tak lupa ucapan terima kasih penulis tujukan kepada Ibu Dekan, para Pembantu Dekan, Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, serta Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Kepala Laboratorium Biofarmasi, Mikrobiologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, dan Laboratorium Imunologi Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Makassar serta seluruh laboran yang telah membantu penulis selama pengerjaan penelitian ini, khususnya Kak Cia, Kak Sumi, Kak Lia, Kak Dewi, Bu Adri, Pak Syaib, dan Arti.

Kepada The Dozen Community : A. Dian Permana, Armini Syamsidi, A. Irma Suryani, Fitriana Nur Husain, Arni Fitrianti, Khairiyah, Zubaedah, Sandra Aulia M., Yusnita Usman, Jainer Pasca Siampa, dan Mega Purnamasari atas dukungan dan cerita-cerita indah yang kita ukir bersama. *Thanks to teach me 'what friend are for' guys!*

Kepada kakak-kakak terbaikku : A. Arjuna, S.Si., Apt., Ismail, S.Si., Sukanto S. M., S.Si., Apt. atas bantuan dan dorongan moralnya dan kepada seluruh mahasiswa farmasi, khususnya angkatan 2006 yang telah menemani jalan panjang penulis menyelesaikan kuliah di Farmasi. *Thanks for our friendship!!!*

Buat Adikku Ikmar Masykur dan sepupu serta sahabat terbaikku : Fadel, Taufiq, Nurul, Agung, Heri, Faiz, Buyung, Putri, Indra Wahyu

Ramadhan, Asnani Dewi M., Katy, Nobhe, Fitri, Sari, Adri, Mbak Dewi dan Uni yang selalu memberi semangat, dukungan dan doa. Serta semua pihak yang telah turut membantu dalam penyusunan skripsi ini, yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Makassar, Februari 2010

Penulis

ABSTRAK

Pare (*Momordica charantia*) merupakan tumbuhan yang tumbuh luas di daerah tropis, dan daunnya sangat bermanfaat dalam pengobatan. Telah dilakukan penelitian efek jus daun pare (*Momordica charantia* L.) terhadap aktivitas immunoglobulin M (IgM) dan immunoglobulin G (IgG). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek jus daun pare (*Momordica charantia*) sebagai immunomodulator, khususnya terhadap aktivitas immunoglobulin M (IgM) dan immunoglobulin G (IgG). Lima konsentrasi berbeda untuk jus daun pare yaitu 2,5% b/v, 5% b/v, 10% b/v, 20% b/v, dan 40% b/v, yang diberikan secara peroral sebanyak 1 ml/30gBB mencit selama lima hari. Kemudian setiap hewan diimunisasi dengan antigen sel darah merah domba (SDMD) 2 % v/v secara intraperitoneal sebanyak 1 ml/30g BB mencit. Pengamatan aktivitas immunoglobulin M (IgM) dan Immunoglobulin G (IgG) dilakukan pada hari keenam dan kesebelas dengan menggunakan metode haemagglutinasititer antibodi. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa jus daun pare (*Momordica charantia* L.) dapat meningkatkan aktivitas immunoglobulin M (IgM) dan immunoglobulin G (IgG) yang lebih tinggi dari kelompok control. Hasil analisis statistik dengan uji ANNOVA menunjukkan pengaruh pemberian jus yang sangat nyata ($p > 0,01$) untuk aktivitas Immunoglobulin M (IgM) dan nyata ($p > 0,05$) untuk Immunoglobulin G (IgG). Uji Beda Jarak Nyata Duncan menunjukkan bahwa konsentrasi jus 20% b/v (1.210 g/70KgBB) menunjukkan efek paling tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol dan berbeda sangat nyata dengan konsentrasi uji yang lain untuk aktivitas IgM, namun tidak berbeda nyata dengan konsentrasi uji 10% b/v dan 40% b/v untuk aktivitas IgG.

ABSTRACT

Bitter melon (*Momordica charantia*) is widely growth in tropical area, and the leaves were useful in medicinal. The research about the effect of bitter melon leaves juice for immunoglobulin M (IgM) and immunoglobulin G (IgG) activity had been done. The research was aimed to determine the effect of bitter melon leaves juice for immunoglobulin M (IgM) and immunoglobulin G (IgG) activity. Five different concentrations, 2,5% w/v, 5% w/v, 10%w/v, 20%w/v, and 40% w/v of bitter melon leaves juice, with 1 ml/30 g body weight were given orally once a day for five days. Then each animal was immunized 1 ml/ 30 g body weight of 2 % Sheep Red Blood Cells (RBC) as the antigenic challenges. The evaluation of IgM dan IgG activity was conducted at the day 6th and 11th after immunization for IgM and IgG, respectively, using haemagglutinating antibody titter (HAT) method. The result of study indicated that bitter melon leaves juice increased immunoglobulin M (IgM) and immunoglobulin G (IgG) activity, higher than negative control. The result of statistical analysis in ANNOVA test showed that there was effect of bitter melon leaves juice, that was very significant ($P>0.01$) for immunoglobulin M (IgM) activity and significant ($p>0,05$) for immunoglobulin G (IgG) activity. Duncan Multiple Range Test (DMRT) was showed that concentration of juice 20% w/v (1.210 g/70KgBW) was the highest if compared with negative control, and very significant with others concentration for IgM activity, but not significant with concentration 10% w/v dan 40% w/v for IgG activity.

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Uraian Tanaman Daun pare (<i>Momordica charantia L.</i>).....	4
II.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	4
II.1.2 Penamaan Tanaman.....	4
II.1.3 Morfologi.....	5
II.1.4 Tempat Tumbuh.....	6
II.1.5 Kandungan Kimia.....	6
II.1.6 Kegunaan.....	6
II.2 Jus.....	7
II.3 Uraian Hewan Percobaan.....	8
II.4 Uraian Sistem Imun Tubuh.....	9
II.4.1 Definisi.....	9
II.4.2 Klasifikasi Respon Imun.....	10

II.5 Antigen	16
II.6 Antibodi.....	16
II.6.1 Definisi.....	16
II.6.2 Struktur Immunoglobulin.....	17
II.6.3 Fungsi Immunoglobulin	18
II.6.4 Klasifikasi Immunoglobulin.....	19
II.7 Immunoglobulin G (IgG).....	19
II.7.1 Sifat Fisikokimia.....	19
II.7.2 Struktur dan Sifat.....	20
II.7.3 Aktivitas Biologi dan Immunologi.....	20
II.8 Immunoglobulin M (IgM).....	21
II.8.1 Sifat Fisikokimia.....	21
II.8.2 Struktur dan Sifat.....	22
II.8.3 Aktivitas Biologi dan Immunologi.....	22
II.9 Teknik Immunokimia.....	23
II.9.1 Immunopresipitasi.....	23
II.9.2 Aglutinasi.....	24
II.9.3 Hemaglutinasi Pasif.....	25
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	26
III.1 Alat dan Bahan yang digunakan.....	26
III.2 Penyiapan Sampel	26
III.3 Pengujian Aktivitas imunoglobulin pada Hewan Uji.....	27
III.3.1 Pembuatan <i>Phosphat Buffered Saline</i> (PBS).....	27

III.3.2 Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah Domba (SDMD) 2%.....	27
III.3.3 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji.....	27
III.3.4 Perlakuan terhadap Hewan Uji.....	28
III.3.5 Pengambilan Sampel Darah Hewan Uji.....	28
III.3.6 Uji Hemaglutinasi.....	29
III.4 Pengumpulan dan Analisis data.....	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
IV.1 Hasil Penelitian.....	30
IV.2 Pembahasan.....	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
V.1 Kesimpulan	38
V.2 Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Skema Kerja.....	41
B. Analisis Statistika Rasio Aktivitas Immunoglobulin M (IgM) dan Immunoglobulin G (IgG) dengan Menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).....	42
C. Analisis Statistika Rasio Bobot Badan Mencit dengan Menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).....	41
D. Gambar Penelitian	56

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Data Titer imunoglobulin M (IgM) Setelah Pemberian Jus Daun Pare (<i>Momordica charantia</i> L.)	30
2.	Data Titer Imunoglobulin G (IgG) Setelah Pemberian Jus Daun Pare (<i>Momordica charantia</i> L.)	30
3.	Data Titer Imunoglobulin M (IgM) Setelah Ditransformasi dengan $[2 \log (\text{titer})]+1$	42
4.	Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan terhadap Aktivitas Imunoglobulin M(IgM).....	44
5.	Hasil Analisis Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND).....	46
6.	Data Titer Imunoglobulin G (IgG) Setelah Ditransformasi dengan $[2 \log (\text{titer})]+1$	46
7.	Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan terhadap Aktivitas Imunoglobulin G (IgG).....	48
8.	Hasil Analisis Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND).....	50
9.	Data Bobot Badan Mencit yang digunakan dalam pengamatan aktivitas Imunoglobulin M (IgM).....	51
10.	Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Bobot Badan Terhadap Aktivitas Imunoglobulin M (IgM).....	53
11.	Data Bobot Badan Mencit yang digunakan dalam pengamatan aktivitas Imunoglobulin G (IgG).....	53
12.	Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Bobot Badan Terhadap Aktivitas Imunoglobulin G (IgG).....	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Molekul Immunoglobulin.....	17
2. Histogram Aktivitas Immunoglobulin M (IgM) Immunoglobulin G (IgG).....	35
3. Foto hasil uji hemaglutinasi pada plat mikrotiter untuk pengamatan aktivitas Immunoglobulin M (IgM).....	56
4. Foto hasil uji hemaglutinasi pada plat mikrotiter untuk pengamatan aktivitas Immunoglobulin G (IgG).....	56
5. Foto Domba Sumber Antigen Sel Darah Merah Domba (SDMD).....	56
6. Foto Pengambilan Darah Mencit secara intrakardiak.....	57
7. Tanaman Daun pare (<i>Momordica charantia L.</i>).....	57

BAB I

PENDAHULUAN

Dewasa ini, salah satu metode yang dikembangkan dalam dunia pengobatan adalah penggunaan obat tradisional dalam meningkatkan sistem imunitas tubuh. Ketika penyakit yang menyerang termasuk penyakit infeksi, maka sistem imunitas tubuh akan membunuh penyebab penyakit tersebut dengan mekanisme tidak langsung yaitu dengan cara meningkatkan ketahanan sel. Ini merupakan salah satu alasan untuk meningkatkan sistem imunologi pasien (1).

Ketahanan tubuh tergantung dari adanya antibodi. Sebenarnya, antibodi merupakan protein immunoglobulin yang disekresikan oleh sel B yang disebabkan oleh antigen. Immunoglobulin merupakan senyawa pertama yang diidentifikasi sebagai molekul dalam serum yang dapat menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi penyakit. Immunoglobulin M (IgM) merupakan antibodi yang sangat efisien dalam aktivasi, sementara immunoglobulin G (IgG) dapat membantu proses fagositosis pada pendestruksian antigen (2).

Pare (*Momordica charantia*) merupakan tanaman tropikal dan subtropikal yang berasal dari family Cucurbitaceae, secara luas tumbuh sebagai buah yang dimakan, paling pahit diantara sayuran lain. Nama Inggris untuk tanaman dan buahnya disebut *Bitter Melon leaves* atau *bitter ground* (3).

Pare telah digunakan dalam sistem pengobatan tradisional pada berbagai daerah Asia sejak lama. Seperti kebanyakan makanan berasa pahit, pare menstimulasi pencernaan, dapat menolong orang yang mengalami gangguan pencernaan, dyspepsia, dan konstipasi (3).

Kandungan daun pare adalah glikosida seperti momordisina, momordina, karantina, resin, asam trikosanik, asam resinat, saponin, vitamin A, dan C serta minyak lemak yang terdiri dari asam oleat, asam linoleat, asam stearat dan L.oleostearat (8).

Dari penelitian sebelumnya, V. Prasad, dkk. (2006) menunjukkan bahwa ekstrak buah Pare (*Momordica charantia*.) dengan dosis 175 mg/Kg/hari dan 350 mg/Kg/hari dapat meningkatkan aktivitas imunomodulator pada mencit (4).

Sehubungan dengan hal tersebut di atas, maka telah dilakukan penelitian efek jus daun pare (*Momordica charantia*) terhadap aktivitas IgM dan IgG. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek jus daun pare (*Momordica charantia*) berefek sebagai immunomodulator, khususnya terhadap aktivitas imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG) mencit jantan (*Mus musculus*).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode hemaglutinasi, dimana antibodi diinduksi dengan antigen dari sel darah merah domba (SDMD), 24 jam setelah induksi dilakukan pemberian jus daun pare (*Momordica charantia*) selama 5 hari berturut-turut. Efek imunomodulator diamati dari terjadinya aglutinasi pada serial pengenceran

serum (mengandung antibodi) saat sel darah merah domba (SDMD) ditambahkan kembali pada sumur mikrotiter.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman Pare (*Momordica charantia*)

II.1.1 Klasifikasi (8,9)

Dunia	:	Plantae
Divisi	:	Spermatophyta
Anak divisi	:	Angiospermae
Kelas	:	Dicotyledoneae
Anak kelas	:	Dialypetalae
Bangsa	:	Cucurbitales
Keluarga	:	Cucurbitaceae
Marga	:	Momordica
Jenis	:	<i>Momordica Charantia</i>

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

Pare dalam bahasa jawa disebut paria, pare, pare pahit, pepareh. Di Sumatera disebut prieu, peria, foria, pepare, kambeh, paria paya, paria, truwuk. Di Nusa Tenggara disebut paita, paliak, pariak, pania, pepule. Di Sulawesi, pare disebut poya, pudu, pentu, paria belenggede, palia, papariane, pariane, papari, kakariano, taparipong, papariano, popare, pepare.

II.1.3 Morfologi (9,10)

- Akar** : Akar tunjang, sisi berserabut yang berkembang luas di kawasan sekeliling. Tumbuh atau memanjat dengan alat pembelit atau sulur berbentuk spiral, banyak bercabang.
- Batang** : Batang berusuk lima, panjang 2-5 m, yang muda berambut rapat. Bertangkai yang panjangnya 1,5-5,3 cm, letak berseling, bentuknya bulat panjang, dengan panjang 3,5-8,5 cm, lebar 4 cm, berbagi menjari 5-7, pangkal berbentuk jantung, warnanya hijau tua, yang muda berambut cukup rapat.
- Daun** : Daun tunggal dengan panjang 3,5-8,5 cm, lebar 4 cm, berbagi menjari 5-7, pangkal berbentuk jantung, garis tengah 4-17cm berbintik-bintik tembus cahaya, taju bergigi kasar hingga berlekuk menyirip, warnanya hijau tua. Daun pare yang tumbuh liar disebut daun tundung yang lebih berkhasiat sebagai obat.
- Bunga** : Tangkai bunga 5-15cm dekat pangkalnya dengan daun pelindung berbentuk jantung hingga ginjal, kelompok bentuk lonceng, dengan banyak rusuk atau tulang membujur, yang berakir pada 2-3 sisik yang melengkung ke bawah. Mahkota berbentuk roda, taju berbentuk memanjang hingga bulat telur terbalik, bertulang 1,5-2 kali 1,3cm bunga jantan bernang sari 3, kepala sari orange, semula bergandengan satu dengan lainnya, kemudian lepas, bakal buah berparuh panjang, berduri temple halus dan berambut panjang, putik 3, berlekuk 2 dalam atau 1 diantaranya utuh.
- Buah** : Buah bulat memanjang berbentuk spul cylindris, permukaan buahnya bintil-bintil tidak beraturan dengan panjang 8-30 cm. Warna buah hijau dan jika sudah masak jika dipecah akan berwarna orange dengan 3 katup.
- Biji** : Biji banyak, berwarna coklat kekuningan pucat, bentuknya pipih memanjang dan keras. Jika buah masih mentah maka biji akan berwarna putih.

II.1.4 Tempat tumbuh (8)

Pare banyak terdapat di daerah tropika, tumbuh baik di dataran rendah dan dapat ditemukan tumbuh liar di tanah terlantar, tegalan, dibudidayakan atau ditanam di pekarangan dengan dirambatkan di pagar, untuk diambil buahnya. Tanaman ini tidak memerlukan banyak sinar matahari, sehingga dapat tumbuh subur di tempat-tempat yang agak terlindung. Tanaman setahun, merambat atau memanjat dengan alat pembelit atau sulur berbentuk spiral, banyak bercabang, berbau tidak enak.

II.1.5 Kandungan Kimia (8,9)

Daun Pare mengandung momordisina, momordina, karantina, resin, asam trikosanik, asam resinat, saponin, vitamin A, dan C serta minyak lemak yang terdiri dari asam oleat, asam linoleat, asam stearat dan L.oleostearat.

II.1.6 Kegunaan (9)

Daun pare berkhasiat sebagai anti inflamasi dan antelmintik, selain itu juga dapat sebagai obat untuk batuk, radang tenggorokan, sakit mata merah, demam, malaria, menambah nafsu makan, kencing manis, rematik, sariawan; bisul, abses, sakit lever, sembelit, cacangan, nifas, pelancar ASI, sementara akarnya banyak digunakan dalam pengobatan disentri akibat amoeba.

II.2 Jus (*Juice*)

II.2.1 Definisi Jus (21)

Jus merupakan sediaan fitofarmasetika yang dihasilkan melalui metode tertentu. Jus dapat diperoleh baik secara langsung maupun melalui pemerasan terlebih dahulu.

II.2.2. Jus Perasan (21)

Jus perasan merupakan jenis jus yang diperoleh dengan metode perasan dari bagian tanaman atau buah-buahan, yang jika perlu dapat ditambahkan sedikit air. Proses pembuatan jus buah berbeda-beda untuk setiap jenis buah, tetapi pada prinsipnya adalah sama, yaitu penghancuran daging buah masak yang masih segar yang kemudian diperas. Sari buah yang diperoleh kemudian disaring, dibotolkan supaya tahan lama.

Sari buah yang dihasilkan umumnya bersifat keruh dan mengandung endapan, akibat tingginya kadar pektin buah. Semakin tinggi kadar pectin, semakin keruh hasil yang diperoleh. Yang termasuk sari buah keruh adalah nenas, wortel, jeruk, dan tomat. Sedangkan yang termasuk sari buah jernih adalah apel dan anggur.

II.2.3 Jus Bukan Perasan (21)

Yang termasuk dalam jenis ini adalah eksudat yang berasal dari tanaman dan bagian tanaman yang mengalami "perdarahan" secara alami atau melalui metode tertentu. Umumnya, jus ini dikumpulkan secara sebagian yang dikeringkan atau larutan yang akan mengalami proses

lebih lanjut. Contoh jus tumbuhan yang masuk dalam kategori ini adalah aloe, opium, gom arab, gom resin, dan balsam peru.

II.2.4 Jus Buatan (21)

Jus jenis ini disebut jus yang tidak berasal dari tumbuhan dan tidak dibuat walaupun tumbuhan telah mengalami "perdarahan". Jus jenis ini lebih sering dibuat dengan ekstraksi menggunakan pelarut, biasanya air, contoh jenis ini adalah succus liquiritiae.

II.3 Uraian Hewan Percobaan

II.3.1 Klasifikasi (20)

Dunia	:	Animalia
Filum	:	Chordata
Anak Filum	:	Vertebrata
Kelas	:	Mamalia
Anak kelas	:	Theria
Bangsa	:	Rodentia
Keluarga	:	Muridae
Marga	:	Mus
Jenis	:	<i>Mus musculus</i>

II.3.2 Karakteristik (18)

Mencit (*Mus musculus*) adalah tikus rumah biasa yang termasuk kedalam ordo rodentia dan family Muridae. Ada lebih 500 galur murni jenis mencit di dunia. Mencit dewasa biasanya memiliki berat antara 25-40

gram dan mempunyai berbagai macam warna, antara lain albino, hitam, coklat, dan abu-abu. Mayoritas mencit laboratorium adalah strain albino yang mempunyai warna bulu putih dan mata merah muda.

Mencit merupakan hewan yang tidak mempunyai kelenjar keringat. Jantung terdiri dari empat ruang dengan dinding atrium yang tipis dan dinding ventrikel yang lebih tebal. Mencit mempunyai karakter lebih aktif daripada malam hari (nocturnal).

Lama hidup mencit adalah 1-2 tahun, bisa sampai 3 tahun. Lama bunting mencit adalah 19-21 hari. Mencit cenderung akan kawin sesudah beranak pada waktu 1-24 jam setelah melahirkan. Umur mencit umumnya adalah 21 hari, sementara, umur dewasa adalah 35 hari. Berat mencit dewasa adalah 20-40 g jantan, sedangkan betina adalah 18-35 g. Berat ketika lahir berkisar antara 1,5-1,0 g. Jumlah anak dalam sekali beranak adalah rata-rata 6 ekor, dan bisa sampai 15 ekor. Suhu (rectal) 35-39°C.

II.4 Uraian Sistem Imun Tubuh

II.4.1 Definisi

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 (3).

Respons imun sangat bergantung pada kemampuan sistem imun untuk mengenal molekul asing (antigen) yang terdapat pada patogen potensial dan kemudian membangkitkan reaksi yang tepat untuk menyingkirkan sumber antigen bersangkutan (12).

II.4.2 Klasifikasi Respon Imun

II.4.2.1 Respon Imun Nonspesifik (2,12)

Respons imun nonspesifik umumnya merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*), dalam arti bahwa respons terhadap zat asing dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar pada zat tersebut. Disebut nonspesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroba tertentu, telah ada dan siap berfungsi sejak lahir.

Komponen-komponen sistem imun nonspesifik terdiri atas :

A. Pertahanan fisik/mekanik

Dalam sistem pertahanan fisik atau mekanik, kulit, selaput lendir, silia saluran nafas, 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 risiko infeksi.

B. Pertahanan biokimia

Kebanyakan mikroba tidak dapat menembus kulit yang sehat, namun beberapa 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.

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.

Asam hidroklorida dalam lambung, enzim proteolitik, antibodi dan empedu dalam usus halus membantu menciptakan lingkungan yang dapat mencegah infeksi banyak mikroba. pH yang rendah dalam vagina, spermin dalam semen dan jaringan lain dapat mencegah tumbuhnya bakteri gram positif. Pembilasan oleh urin dapat mengeliminasi kuman patogen.

Bahan yang disekresi mukosa saluran napas (enzim dan antibodi) dan telinga berperan pula dalam pertahanan tubuh secara biokimiawi. Mukus yang kental melindungi sel epitel mukosa, dapat menangkap bakteri dan bahan lainnya yang selanjutnya dikeluarkan oleh gerakan silia.

C. Pertahanan humoral

Berbagai bahan dalam sirkulasi seperti komplemen, interferon, CRP 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.

1) Komplemen

Komplemen terdiri atas sejumlah besar protein yang bila diaktifkan akan memberikan proteksi terhadap infeksi dan berperan dalam respons

inflamasi. Komplemen dapat diaktifkan secara langsung oleh mikroba atau produknya atau oleh antibodi. Komplemen berperan sebagai opsonin yang meningkatkan fagositosis, sebagai faktor kemotaktik dan juga menimbulkan destruksi/lisis bakteri dan parasit.

2) Interferon

Interferon adalah sitokin berupa glikoprotein yang diproduksi makrofag yang diaktifkan, sel NK (*Natural Killer*) dan berbagai sel tubuh yang mengandung nukleus dan dilepas sebagai respons terhadap infeksi virus. IFN (interferon) mempunyai sifat antivirus dan dapat menginduksi sel-sel sekitar sel yang terinfeksi virus menjadi resisten terhadap virus.

3) Protein Fase Akut

Selama terjadi infeksi, produk bakteri seperti LPS (lipopolisakarida) mengaktifkan makrofag dan sel lain untuk melepas berbagai sitokin seperti IL-1 (Interleukin) yang merupakan pirogen endogen, TNF (Tumor Necrosis Factor) dan IL-6. Sitokin-sitokin tersebut merangsang hati untuk mensintesis dan melepas sejumlah protein plasma yang disebut protein fase akut seperti CRP (C-Reactive Protein), MBL (Mannan Binding Lectin). CRP termasuk golongan protein yang kadarnya dalam darah meningkat pada infeksi akut sebagai respons imunitas nonspesifik. MBL berperan mengaktifkan komplemen. Protein fase akut lain adalah α 1-antitripsin, amiloid serum A, haptoglobin dan fibrinogen, yang juga berperan pada peningkatan laju endap darah akibat infeksi. Secara keseluruhan, respons fase akut memberikan efek menguntungkan melalui peningkatan

resistensi pejamu, mengurangi cedera jaringan dan meningkatkan resolusi dan perbaikan cedera inflamasi,

4) Kolektin

Kolektin adalah protein yang berfungsi sebagai opsonin yang dapat mengikat hidrat arang pada permukaan kuman. Kompleks yang terbentuk diikat reseptor fagosit untuk dimakan. Selanjutnya komplemen juga diaktifkan.

D. Pertahanan selular

Fagosit, makrofag, dan sel *Natural Killer* (NK) berperan dalam sistem imun nonspesifik seluler.

1) Fagosit

Fagositosis yang efektif pada kuman dini akan dapat mencegah timbulnya infeksi. Supaya dapat terjadi fagositosis, sel-sel fagosit harus berada dalam jarak dekat dengan partikel bakteri, atau lebih tepat lagi bahwa partikel tersebut harus melekat pada permukaan fagosit. Untuk itu fagosit harus bergerak menuju sasaran yang dimungkinkan berkat dilepaskannya zat atau mediator tertentu yang disebut faktor leukotaktik atau kemotaktik yang berasal dari bakteri maupun yang dilepaskan oleh neutrofil atau makrofag yang sebelumnya telah berada di lokasi bakteri. Selanjutnya bakteri perlu mengalami opsonisasi, berarti bakteri terlebih dahulu dilapisi (opsonisasi) oleh imunoglobulin atau komplemen (C3b) agar lebih mudah ditangkap oleh fagosit. Selanjutnya bakteri masuk ke dalam sel dengan cara endositosis dan terperangkap dalam kantung

fagosom seolah-olah ditelan dan dihancurkan, baik dengan proses oksidasi-reduksi maupun oleh derajat keasaman yang ada dalam fagosit atau penghancuran oleh lisozim dan gangguan metabolisme bakteri.

2) Makrofag

Monosit ditemukan dalam sirkulasi, tetapi jumlah yang lebih sedikit dibanding neutrofil. Monosit bermigrasi ke jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag dapat hidup lama, mempunyai beberapa granula dan melepaskan berbagai bahan, antara lain lisozim, komplemen, interferon dan sitokin yang memberikan kontribusi dalam pertahanan spesifik dan nonspesifik.

3) Sel NK

Limfosit terdiri atas sel B, sel T dan sel NK. Jumlah sel NK sekitar 5-125% dari limfosit dalam sirkulasi dan 425% dari limfosit jaringan. Sel tersebut berfungsi dalam imunitas nonspesifik terhadap virus dan tumor.

4) Sel mast

Sel mast berperan dalam reaksi alergi dan juga dalam pertahanan pejamu, jumlahnya menurun pada sindrom imunodefisiensi. Sel mast juga berperan pada imunitas terhadap parasit dalam usus dan terhadap invasi bakteri.

II.4.2.1 Respon Imun Spesifik (2,12)

Respon imun spesifik merupakan respons didapat (*acquired*) yang timbul terhadap antigen tertentu, dimana tubuh pernah terpapar sebelumnya. Sistem imun spesifik mempunyai kemampuan mengenal

benda yang dianggap asing bagi dirinya. Benda asing yang pertama kali muncul dalam tubuh segera dikenal oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitasi sel-sel sistem imun tersebut. Benda asing yang sama, bila terpajan ulang akan dikenal lebih cepat, kemudian dihancurkan.

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.

B. Sistem imun spesifik seluler

Limfosit T atau sel T berperan pada sistem imun spesifik seluler. Limfosit T dibentuk didalam sum-sum tulang tetapi poliferasi dan diferensiasinya terjadi di dalam kelenjar timus. Fungsi utama sistem imun spesifik seluler adalah pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraseluler, virus, jamur, parasit dan keganasan.

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.5 Antigen

Molekul-molekul mikroorganisme yang menyebabkan terbentuknya serta bereaksi dengan antibodi disebut antigen (12). Istilah antigen sekarang digunakan untuk menyebut substansi yang mampu bereaksi dengan antibodi yang diproduksi atas rangsangan imunogen, tanpa mempertimbangkan apakah antigen itu sendiri bersifat imunogenik. Ini berarti bahwa semua imunogen adalah antigen, tetapi tidak semua antigen merupakan imunogen. Kita ketahui bahwa hampir semua molekul biologik, termasuk karbohidrat, lipid, hormon, protein, dan asam nukleat dapat bertindak sebagai antigen, tetapi hanya makromolekul yang bersifat imunogenik dan mampu merangsang aktivasi limfosit yang diperlukan untuk mengawali respons imun. Substansi dengan berat molekul rendah, seperti berbagai jenis obat dan antibiotik, umumnya tidak imunogenik, tetapi bila diikat pada protein yang imunogenik (*carrier protein*) ia akan membentuk suatu kompleks yang dapat merangsang sistem imun untuk memproduksi antibodi terhadap molekul tersebut (12).

II.6. Antibodi

II.6.1 Definisi

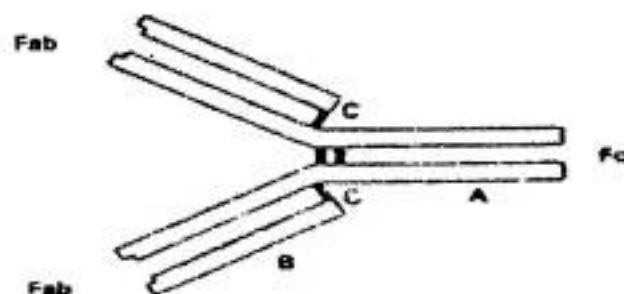
Bila darah dibiarkan membeku akan meninggalkan serum yang mengandung berbagai bahan larut tanpa sel. Bahan tersebut mengandung

molekul antibodi yang digolongkan dalam protein yang disebut sebagai globulin dan sekarang dikenal sebagai immunoglobulin. Dua cirinya yang penting ialah spesifitas dan aktivitas biologik (2).

Antibodi atau Immunoglobulin (Ig) adalah golongan protein yang dibentuk sel plasma (proliferasi sel B) akibat kontak dengan antigen. Antibodi mengikat antigen yang menimbulkannya secara spesifik. Bila serum protein tersebut dipisahkan secara elektroforesis, Ig ditemukan terbanyak dalam dalam fraksi globulin gama meskipun ada beberapa yang ditemukan juga dalam fraksi globulin α dan β (13).

II.6.2 Struktur Immunoglobulin

Struktur dasar immunoglobulin terdiri atas 2 rantai berat (H-chain) yang identik dan 2 rantai ringan (L-chain) yang juga identik.



Gambar 1. Struktur immunoglobulin

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 (12). Ada 2 jenis rantai ringan (*kappa* dan *lambda*) yang terdiri atas 230 asam amino serta 5 jenis rantai berat yang tergantung pada kelima jenis immunoglobulin. Rantai berat terdiri atas 450-600 asam amino, sehingga berat dan panjang rantai berat tersebut adalah dua kali rantai ringan (2).

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* yang dibentuk oleh domain terminal-N dan 1 fragmen yang hanya terdiri atas rantai berat saja disebut fragmen *Fc* 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 immunoglobulin 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 (determinan antigen) dan menentukan sifat biologi immunoglobulin bersangkutan (12).

II.6.3 Fungsi Immunoglobulin (12)

Imunoglobulin merupakan substansi pertama yang diidentifikasi sebagai molekul dalam serum yang mampu menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi. Antibodi yang disekresikan dapat berfungsi sebagai adaptor yang mengikat antigen melalui *binding-sites*-nya yang spesifik, sekaligus merupakan jembatan yang menghubungkan antigen dengan sel-sel sistem imun atau mengaktivasi komplemen.

Pada beberapa keadaan, antibodi melaksanakan fungsi proteksinya dengan menetralkan antigen secara langsung dengan interaksi antigen-antibodi, tetapi yang lebih sering adalah bahwa dalam melaksanakan

fungsinya ia dibantu oleh sistem efektor lain, misalnya komplemen, fagosit dan sel sitotoksik.

II.6.4 Klasifikasi Immunoglobulin (12)

Saat ini dikenal 5 kelas utama immunoglobulin, setiap kelas mempunyai rantai berat yang spesifik. Tiap molekul IgG tersusun atas satu unit dasar (monomer) terdiri atas 2 rantai γ yang dirangkaikan dengan 2 rantai κ atau rantai λ , IgE juga merupakan monomer tersusun atas 2 rantai ϵ dan 2 rantai κ atau rantai λ , demikian pula IgD yang terdiri atas 2 rantai δ dan 2 rantai κ atau rantai λ . Di lain pihak IgM yang disekresikan merupakan molekul pentamer terdiri atas 5 unit dasar. Tiap unit dasar terdiri atas 2 rantai μ dengan 2 rantai κ atau rantai λ . IgA juga dapat dijumpai dalam 2 bentuk, monomer dan dimer terdiri 2 unit dasar, masing-masing unit mempunyai 2 rantai α dan 2 rantai κ atau rantai λ .

II.7 Immunoglobulin G (IgG)

II.7.1 Sifat Fisikokimia (14)

IgG adalah immunoglobulin utama pada serum manusia yang meliputi 70-725% dari seluruh immunoglobulin. IgG normalnya terdapat dalam serum orang dewasa pada konsentrasi 1,0 sampai 1,4 gram per 100 ml, dan itu berarti 12 sampai 18 persen dari total protein serum. IgG juga didistribusikan secara ekstravaskular (sekitar 50%). Rata-rata dihasilkan sekitar 2,3 gram per hari (untuk berat badan sekitar 70 Kg) dan $T_{1/2}$ nya sekitar 23 hari. Kandungan karbohidrat dari IgG sangat rendah :

2,5 %. Berat molekul dari IgG sekitar 160.000 dalton dan koefisien sedimentasinya sekitar 7 S (7 Svedbergs).

II.7.2 Struktur dan sifat (15)

Setiap molekul IgG terdiri dari 2 rantai L dan dua rantai H yang dihubungkan oleh ikatan disulfida. Karena mempunyai 2 tempat pengikatan yang identik, imunoglobulin ini bersifat divalen. Berdasarkan perbedaan antigenik rantai H dan pada jumlah dan lokasi ikatan disulfida, ada empat sub kelas IgG, yaitu IgG1, IgG2, IgG3, dan IgG4. Sebagian besar IgG adalah IgG1 (625%). Antibodi IgG2 ditujukan pada antigen polisakarida yang merupakan bagian sistem pertahanan penting terhadap bakteri berkapsul.

IgG merupakan antibodi terpenting pada respon imun sekunder dan juga merupakan antibodi penting untuk pertahanan terhadap bakteri dan virus. IgG adalah satu-satunya antibodi yang melewati plasenta. Antibodi ini memberikan imunitas pasif yang tinggi pada bayi baru lahir.

II.7.3 Aktivitas biologi dan imunologi

Diantara semua kelas imunoglobulin, IgG paling mudah berdifusi ke dalam jaringan ekstrasvaskular dan melakukan aktivitas antibodi di jaringan. IgG pulalah yang umumnya melapisi mikroorganisme sehingga partikel itu lebih mudah difagositosis, di samping itu IgG juga mampu menetralsiasi toksin dan virus (12). IgG dan komplemen bekerja saling membantu sebagai opsonin pada pemusnahan antigen. IgG memiliki sifat opsonin dan efektif karena sel-sel fagosit, monosit, dan makrofag,

mempunyai reseptor untuk fraksi Fc dari IgG (Fcγ-R) sehingga dapat mempererat hubungan antara fagosit dengan sel sasaran. Oponin dalam bahasa Yunani berarti menyiapkan untuk dimakan. Selanjutnya proses opsonisasi tersebut dibantu oleh reseptor untuk komplemen pada permukaan fagosit (2).

IgG berperan dalam imunitas seluler karena dapat merusak antigen sel melalui interaksi dengan sistem komplemen atau melalui efek sitolitik sel NK, eosinofil, neutrofil yang semuanya memiliki Fcγ-R. sel NK merupakan efektor dari *Antibodi Dependent Cell mediated Cytotoxicity* (ADCC). ADCC tidak hanya merusak sel tunggal, tetapi juga mikroorganisme multiseluler seperti telur skistosoma. Peranan efektor ADCC ini juga penting dalam penghancuran kanker, penolakan transplan dan penyakit autoimun, sedangkan ADCC melalui neutrofil dan eosinofil berperan pada infestasi parasit. Kadar IgG meninggi pada infeksi kronis dan penyakit autoimun (2).

II.8 Immunoglobulin M (IgM)

II.8.1 Sifat Fisikokimia (14)

Konsentrasi normal dari Immunoglobulin 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.8.2 Struktur dan sifat (15)

Molekul IgM merupakan polimer lima sub unit yang masing-masing terdiri dari empat peptida, masing-masing subunit membawa domain C_H ekstra. IgM merupakan imunoglobulin yang berukuran paling besar. Karena ukuran yang besar ini, IgM terutama terdapat dalam intravaskular. Dilihat dari mikroskop electron, IgM berbentuk seperti bintang, tetapi bila ia melekat pada antigen, bagian *Fab* akan melekat pada permukaan antigen sehingga bentuk molekul tampak seperti kepiting.

II.8.3 Aktivitas biologi dan imunologi (14)

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.9 Teknik Imunokimia (16)

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.

II.9.1 Imunopresipitasi (12)

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).

Perbandingan antigen dengan 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 tanpa membentuk presipitat.

II.9.2 Aglutinasi (3,17)

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.

Aglutinasi baru dapat terjadi bila rasio antara antigen dan antibodi seimbang, disebut zona ekuivalen. Pada pengenceran serum yang tinggi kadar antibodi telah amat rendah, sehingga terdapat kelebihan antigen dan menimbulkan rasio antigen dan antibodi yang tidak seimbang. Zona ini disebut zona pasca (post zone) dan fenomenanya disebut fenomena zona pasca (post zone phenomene). Sebaliknya bila pada pengenceran serum yang rendah tes memberi hasil negatif, terdapat kelebihan antibodi sehingga rasio antigen dan antibodi yang tidak seimbang lagi. Zona ini disebut zona pra (prozone) dan fenomenanya disebut fenomena zona pra (prozone phenomene).

II.9.3 Hemaglutinasi pasif (17)

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 mensensitasi sel darah merah yaitu 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.9.3 Hemaglutinasi pasif (17)

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 mensensitasi sel darah merah yaitu 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.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah gelas kimia 100 ml, gelas ukur 25 ml, labu tentu ukur 100,0 ml, lemari pendingin, jarum oral, jarum suntik, *juicer extractor (Phillips)*, mikropipet (*socorex*), pipet skala, sumur mikrotiter tipe U (*Well plate 96 lubang*), tabung vakum yang telah berisi EDTA, sentrifuge (*Hettich*), timbangan analitik (*Dragon 303*), timbangan gram (*O'hauss*), timbangan hewan (*Denver*).

Bahan-bahan yang digunakan adalah lain air suling, daun pare (*Momordica charantia*) yang diperoleh dari Sungguminasa Kabupaten Gowa, kapas, larutan PBS (*Phospat Buffered Saline*), dan sel darah merah domba 2 %. Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) jantan.

III.2 Penyiapan Sampel

Daun pare (*Momordica charantia*) yang masih segar dicuci bersih dan diangin-anginkan, kemudian ditimbang 250 g lalu dimasukkan dalam alat pemeras (*juicer*) lalu jus ditampung, kemudian disaring dan dikeringkan menggunakan *freeze dryer* hingga didapat jus kering, kemudian dibuat konsentrasi uji 2,5% b/v (151,25 g/70KgBB), 5% b/v (302,5 g/70KgBB), 10% b/v (605 g/70KgBB), 20% b/v (1.210 g/70KgBB), dan 40% b/v (2.420 g/70KgBB).

III.3 Pengujian Aktivitas Imunglobulin Pada Hewan Uji

III.3.1 Pembuatan Phosphat Buffered Saline (PBS) (5)

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 NaH_2PO_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% (12)

Sebanyak 1 ml darah domba ditampung dalam tabung yang bersih dan telah dikeringkan yang berisi dengan 1 mg EDTA yang berfungsi sebagai antikoagulan. Kemudian disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm untuk memisahkan sel darah merah domba (SDMD) dari plasmanya. Sel darah merah domba yang didapatkan dicuci dengan penambahan sejumlah besar Phosphat Buffered Saline (PBS) dalam tabung, lalu tabung tersebut dibolak-balik beberapa kali, setelah itu disentrifus kembali. Pencucian dilakukan paling sedikit 3 kali. Setelah disentrifus, PBS dikeluarkan sehingga yang tertinggal adalah SDMD 100%, lalu ditambahkan lagi PBS dengan jumlah yang sama hingga diperoleh suspensi SDMD 50%. Sebanyak 0,4 ml SDMD 50% diencerkan dengan 9,6 ml PBS hingga diperoleh suspensi antigen (SDMD 2% v/v).

III.3.3 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji (12,18)

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) yang sehat dengan bobot badan 20 - 30 g, sebanyak 36 ekor mencit yang

dibagi menjadi 12 kelompok secara acak berdasarkan bobot badan. Pembagian hewan uji dinyatakan telah teracak dengan baik jika secara statistik bobot badan tiap kelompok tidak berbeda nyata. Perlakuan I (kontrol air suling), perlakuan II (jus daun pare 2,5% b/v), perlakuan III (jus daun pare 5% b/v), perlakuan IV (jus daun pare 10% b/v), perlakuan V (jus daun pare 20% b/v), dan perlakuan VI (jus daun pare 40% b/v). Masing-masing kelompok perlakuan diberikan secara oral.

III.3.4 Perlakuan Terhadap Hewan Uji (12)

Pada perlakuan ini, mula-mula mencit jantan jantan diimunisasi dengan 1 ml/kelompok suspensi sel merah darah domba 2 % secara intraperitoneal. Untuk perlakuan kontrol, diberikan air suling 1 ml/25 g bobot badan mencit, jus daun pare masing-masing 2,5% b/v, 5% b/v, 10% b/v, 20% b/v dan 40% b/v dengan volume 1 ml/25 g bobot badan secara oral setiap hari selama 5 hari. Pada hari ke keenam, darah mencit jantan diambil secara intrakardiak untuk mengetahui aktivitas IgM, dan pada hari ke 11, darah mencit jantan diambil secara intrakardiak untuk mengetahui aktivitas IgG.

III.3.5 Pengambilan Sampel Darah Hewan Uji (12)

Sampel darah hewan uji diambil secara intrakardiak pada hari kesepuluh setelah imunisasi dan diletakkan pada suhu kamar selama 1-2 jam hingga darah tersebut membeku/menggumpal lalu diambil serumnya

(supernatan) dengan cara disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm.

III.3.6 Uji Hemaglutinasi (12)

Serum yang diperoleh lalu diencerkan secara "double dilution" dengan Phosphat Buffered Saline dengan perbandingan 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, dan 1/512. Dari masing-masing perbandingan ini dipipet sebanyak 50 μ l dan diletakkan pada 8 sumur piring mikrotiter (well plate 96) untuk setiap konsentrasi jus daun pare, setelah itu ditambahkan 50 μ l suspensi sel darah merah domba 2% pada setiap sumur dan digoyang-goyang selama 5 menit agar homogen. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit dan didiamkan 24 jam pada suhu kamar. Setelah itu, dilakukan pengamatan pengenceran tertinggi dari setiap serum darah mencit jantan jantan yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba.

III.4 Pengumpulan dan Analisis data (19)

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan pengenceran tertinggi serum darah mencit jantan yang masih dapat mengaglutinasi sel darah merah domba dikumpulkan lalu dikonversi dengan menggunakan rumus $[2 \log(\text{titer})]+1$ dan selanjutnya dianalisis secara statistika dengan menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) dan diteruskan dengan Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Data Uji aktivitas imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG) sebelum dan setelah pemberian jus daun pare (*Momordica charantia* Linn.) 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40% berdasarkan titer imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG) pada mencit jantan setelah diberikan SDMD 2%v/v adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Data Titer* Imunoglobulin M (IgM) Setelah Pemberian Jus Daun Pare (*Momordica charantia* L.)

Konsentrasi Jus Replikasi	Titer IgM					
	2,5 %	5 %	10 %	20 %	40 %	Kontrol
1	1/32	1/8	1/32	1/64	1/16	1/4
2	1/16	1/32	1/64	1/128	1/16	1/4
3	1/16	1/32	1/32	1/64	1/32	1/8

Tabel 2. Data Titer* Imunoglobulin G (IgG) Setelah Pemberian Jus Daun Pare (*Momordica charantia* L.)

Konsentrasi Jus Replikasi	Titer IgG					
	2,5 %	5 %	10 %	20 %	40 %	Kontrol
1	1/8	1/8	1/32	1/16	1/32	1/4
2	1/16	1/32	1/32	1/256	1/64	1/8
3	1/16	1/16	1/64	1/64	1/64	1/8

Ket : * titer immunoglobulin merupakan pengenceran tertinggi yang masih dapat mengaglutinasikan antigen.

IV.2 Pembahasan

Masuknya suatu benda asing ke dalam tubuh suatu makhluk hidup akan menimbulkan berbagai reaksi yang bertujuan mempertahankan keutuhan dirinya. Reaksi yang dikoordinasi sel-sel, molekul-molekul terhadap mikroba dan bahan lainnya disebut respons imun. Sistem imun ini diperlukan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup. Pertahanan tubuh berkaitan dengan antibodi. Antibodi atau imunoglobulin adalah golongan protein yang dibentuk sel plasma (poliferasi sel B) akibat kontak dengan antigen. Antibodi yang dibentuk terhadap antigen lain dan masing-masing hanya dapat berikatan dengan antigen yang relevan.

Pada penelitian ini, tanaman yang digunakan adalah daun pare. Pare (*Momordica charantia* L.) adalah tanaman tropikal atau subtropikal dari keluarga *Cucurbitaceae*, yang tumbuh secara liar yang merupakan sayuran yang paling pahit. Pare telah digunakan pada sistem pengobatan tradisional Asia sejak lama. Pare dapat digunakan untuk pengobatan dyspepsia, mual, konstipasi, gangguan ulkus, atau gangguan jantung (22).

Kandungan kimia daun pare (*Momordica charantia*) adalah momordisin, momordin, karantin, asam trikosanik, resin, asam resinat, saponin, vitamin A dan C serta minyak lemak terdiri dari asam oleat, asam linoleat, asam stearat dan L.oleostearat (8).

Mormordin dalam biji buah pare bekerja sebagai antiretroviral dengan menghambat transkripsi pengaktif protein (activator protein-1)

atau AP-1 dan sitotoksik seluler. Hal ini yang membuat virus HIV menjadi terhambat dalam berdiferensiasi ke bentuk DNA virus (23).

Pada penelitian ini, sampel daun pare (*Momordica charantia* L) diperas menggunakan *juice extractor* lalu jus ditampung dan disaring. Hasil saringan jus kemudian dikeringkan dengan *freeze dryer* hingga didapatkan jus kering. Tujuan dilakukan pengamatan terhadap jus daun pare ini adalah untuk mengetahui efek daun pare (*Momordica charantia*) terhadap aktivitas imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG) yang telah digunakan secara empiris oleh masyarakat sejak lama.

Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan yang memiliki berat badan antara 20-30 g yang dikelompokkan secara acak berdasarkan bobot badan, sehingga berdasarkan analisis statistik terhadap berat badan mencit tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan (dapat dilihat pada Lampiran II halaman 51).

Antigen yang digunakan untuk diinduksi produksi antibodi adalah sel darah merah domba (SDMD) yang merupakan imunogen, yaitu antigen yang berasal dari gen spesies lain. SDMD merupakan antigen polivalen yang merupakan protein dengan determinan potensial yang lebih besar dibandingkan dengan antigen monovalen. Lagipula semakin asing antigen yang digunakan, semakin efektif ia menimbulkan respon imun. Antigen ini diinjeksikan ke tubuh mencit secara intraperitoneal. Selang satu hari, mencit diberikan jus daun pare 2,5% b/v, 5% b/v, 10% b/v, 20% b/v, dan 40% b/v secara oral selama 5 hari berturut-turut.

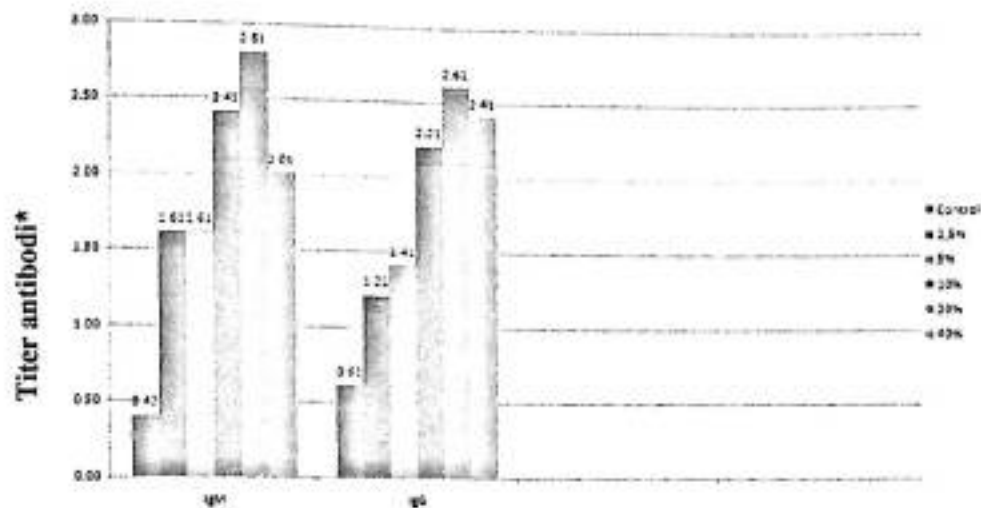
Hari ke-6, atau 5 hari setelah penginduksian SDMD, darah mencit diambil secara intrakardiak untuk mengamati aktivitas IgM dan hari ke-11 untuk IgG. Pengambilan darah untuk pengukuran IgM dan IgG harus dilakukan sesuai dengan hari yang ditentukan setelah pemberian SDMD sebab IgM dan IgG akan segera terbentuk pada selang hari tersebut setelah pemberian antigen.

Selama kurun waktu tersebut, diharapkan telah terjadi sensitasi sel B yang akan berproliferasi, berdiferensiasi dan berkembang menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi yaitu imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG). Pada respon primer, terbentuknya IgG didahului dengan oleh IgM. IgM mulai terbentuk mulai hari pertama dan mencapai puncaknya antara hari kelima hingga ketujuh, setelah itu mulailah IgG disensitasi. Oleh karena itu, darah mencit diambil pada hari keenam untuk pengamatan terhadap IgM dan setelah hari kesepuluh untuk pengamatan terhadap IgG karena IgG mencapai puncak pada hari 10 sampai 14 setelah pemaparan antigen.

Pengujian terhadap serum darah mencit dilakukan dengan menambahkan antigen yang sama yaitu sel darah merah domba. Interaksi antara antigen dengan antibodi menyebabkan terjadinya reaksi sekunder, yaitu berupa aglutinasi atau presipitasi sebab antigen merupakan partikel-partikel kecil yang tidak larut. 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 baru dapat terjadi bila rasio antara antigen dan antibodi seimbang, sehingga terbentuk zona ekuivalen, dibantu oleh suhu yang tinggi ($37-56^{\circ}\text{C}$) dan oleh gerakan yang menambah kontak antigen dan antibodi (misalnya mengocok, mengaduk dan memutar) serta berkumpulnya gumpalan memerlukan garam-garam yang berasal dari PBS yang digunakan.

Pengamatan aktivitas imunoglobulin dilakukan dengan melihat titer antibodi yaitu pengenceran tertinggi dari larutan yang masih menunjukkan reaksi aglutinasi. Dari hasil perhitungan dengan mengonversi nilai titer antibodi dengan rumus $[2 \log (\text{titer})] + 1$, maka hasilnya dapat dilihat pada histogram yang menunjukkan terjadinya peningkatan aktivitas imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG) setelah pemberian jus daun pare (*Momordica charantia*) 2,5% b/v (151,25 g/70KgBB), 5% b/v (302,5 g/70KgBB), 10% b/v (605 g/70KgBB), 20% b/v (1.210 g/70KgBB), dan 40% b/v (2.420 g/70KgBB).



*titer antibodi mencit telah ditransformasi dengan rumus $[2 \log (\text{titer})]+1$

Gambar 2. Histogram Aktivitas Immunoglobulin M (IgM) dan Immunoglobulin G (IgG) Setelah Pemberian Jus Daun Pare

Data pada histogram menunjukkan peningkatan aktivitas immunoglobulin M (IgM) dan immunoglobulin G (IgG) tertinggi pada kelompok perlakuan yang diberikan jus daun pare (*Momordica charantia*) 20% b/v jika dibandingkan dengan kontrol negatif yang hanya diberikan air suling, sehingga dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi hingga 20% menunjukkan peningkatan aktivitas Immunoglobulin M (IgM) dan Immunoglobulin G (IgG). Hal ini diduga karena senyawa aktif sebagai immunostimulator telah mencapai puncaknya pada konsentrasi jus daun pare 20% b/v, namun dengan peningkatan konsentrasi jus daun pare menjadi 40% diduga reaksi aglutinasi tidak terjadi karena perbandingan antara antigen dan antibodi tidak seimbang. Disamping itu, waktu perlakuan terhadap mencit cukup singkat, sehingga penghasilan antibodi diduga belum maksimal yang menyebabkan antigen dan antibodi tidak seimbang.

Pada penelitian ini, metode analisis statistik yang digunakan adalah metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena media atau bahan percobaan "seragam" (dapat dianggap seragam dengan melihat hasil analisis statistik pada bobot badan mencit yang tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan), serta hanya ada satu sumber keragaman, yaitu perlakuan (disamping pengaruh acak) (19).

Berdasarkan analisis statistika dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan Analisis Sidik Ragam (ASR) memperlihatkan bahwa pemberian jus daun pare (*Momordica charantia* Linn.) memberikan pengaruh yang sangat nyata ($p > 0,01$) terhadap peningkatan aktivitas Immunoglobulin M (IgM) dan berpengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap peningkatan aktivitas imunoglobulin G (IgG) (hasil analisis statistik dapat dilihat pada Lampiran II halaman 42).

Analisis antarperlakuan dilakukan dengan metode Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND). Hasil yang diperoleh menunjukkan semua kelompok perlakuan berbeda nyata terhadap kontrol negatif, dan hasil optimum adalah kelompok yang diberikan jus dengan konsentrasi 20%.

Pada pengamatan aktivitas imunoglobulin M (IgM) menunjukkan adanya perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok kontrol (air suling) dengan semua kelompok perlakuan (2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40%), dan antara konsentrasi jus 2,5% dengan 10% dan 20%, serta antara konsentrasi jus 5% dengan 20% dan 40%. Hasil yang menunjukkan perbedaan yang signifikan, yaitu antara konsentrasi jus 10 % dengan 20%

dan 40%, sedangkan antara konsentrasi jus 2,5% dengan 5% menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan.

Pada pengamatan aktivitas imunoglobulin G (IgG) menunjukkan adanya perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok kontrol (air suling) dengan kelompok perlakuan 20% dan 40%. Hasil yang menunjukkan perbedaan yang signifikan, yaitu antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan konsentrasi jus 10% , dan kelompok yang diberikan konsentrasi jus 2,5 % dengan 20% dan 40%, sedangkan perbedaan yang tidak signifikan ditunjukkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang diberikan konsentrasi jus 2,5% dan 5%, serta antara kelompok perlakuan yang diberikan konsentrasi jus 2,5% dengan 5% dan antara kelompok perlakuan yang diberikan konsentrasi jus 10% dengan 20% dan 40%.

Dari hasil ini berarti terjadi peningkatan aktivitas imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG) dengan pemberian jus daun pare dimana konsentrasi 20% adalah konsentrasi yang menunjukkan kemampuan tertinggi dalam meningkatkan aktivitas imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol dan berbeda sangat nyata dengan semua konsentrasi uji yang lain.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data secara statistika, maka disimpulkan bahwa :

1. Jus daun pare (*Momordica charantia* Linn.) dapat meningkatkan aktivitas imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG)
2. Jus daun pare (*Momordica charantia* L.) pada konsentrasi 20% b/v menunjukkan kemampuan tertinggi dalam meningkatkan aktivitas imunoglobulin M (IgM) dan berbeda sangat nyata dengan semua konsentrasi uji yang lain.
3. Jus daun pare (*Momordica charantia* L.) pada konsentrasi 20% b/v menunjukkan kemampuan tertinggi dalam meningkatkan aktivitas imunoglobulin G (IgG) jika dibandingkan dengan kelompok control, namun menunjukkan perbedaan yang tidak nyata jika dibandingkan dengan konsentrasi 10% b/v dan 40% b/v.

V.2 Saran

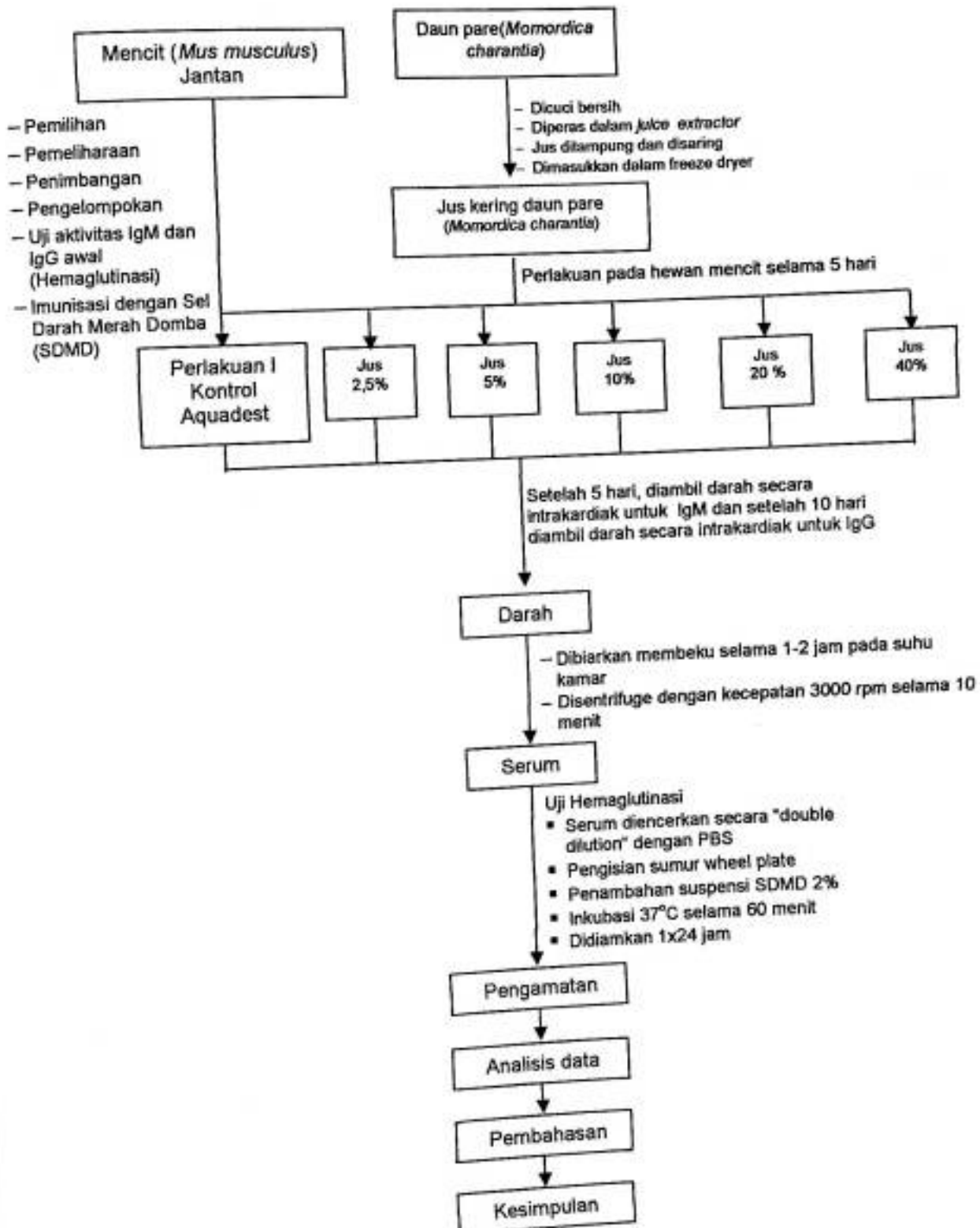
Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun pare dalam meningkatkan sistem imun seluler.

DAFTAR PUSTAKA

1. Winarno M. *Penelitian Aktivitas Biologik Jus Benalu Teh (*Scurulla atropurpurea* Bl. Danser) terhadap aktivitas Sistem Imun Mencit.* [http://www.kalbefarma.com/files/06 Penelitian Aktivitas Biologik Jus Benalu Teh127.pdf](http://www.kalbefarma.com/files/06_Penelitian_Aktivitas_Biologik_Jus_Benalu_Teh127.pdf)/06 Penelitian Aktivitas Biologik Jus Benalu Teh127.html. 2000; diakses 24 Januari 2008.
2. Bratawidjaja K. *Imunologi Dasar*. Edisi VI. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 2004. 19, 78, 82.
3. Abascal K, Yarnell E. *Using Bitter Melon leaves to treat diabetes.* *Altern Complemen Ther* 11(4). 2005.179-184
4. Prasad V, Jain V, Dorle A.K.. *Evaluation of *Momordica charantia* Ghrita for Immunomodulatory Activity.* *Journal of Plant Science* 1 (1). ISSN 1816-4951. Academic Journals Inc., USA. 2006.80-85
5. Hargono D. *Pengaruh Perasan Daun Ngokilo (*Gynura procumbens* Lour. Merr.) terhadap terhadap Aktivitas Sistem Imun Mencit Putih.* www.kalbefarma.com/files/cdk. 2000; Diakses 23 Juni 2008.
6. Habibie. *Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap Aktivitas Immunoglobulin M (IgM) Mencit Jantan (*Mus musculus*).* Skripsi, Jurusan Farmasi. F MIPA. UNHAS. Makassar. 2006.
7. Ma'at S. *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. 2004.101.
8. Anonim. *Tanaman Obat Indonesia, Pare,* http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?id=92. 2005; diakses 28 November 2009
9. Garrod A.B. *Essentials Of Materia Medica And Therapeutics.* Amazone Pub. USA. 2001.
10. Dirjen POM. *Materia Medika Indonesia jilid VI.* Depkes. Jakarta. 1995. 163.
11. Sastroamidjojo S. *Obat Asli Indonesia.* Dian Rakyat. Jakarta. 1988. 570.

12. Kresno S.B. *IMUNOLOGI : Diagnosa Dan Prosedur Laboratorium*. Edisi Keempat, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. 2004. 4-5,7,11-12,15-16, 44-47, 53-54, 408-409.
13. Himpunan Dokter Ahli Penyakit Dalam. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi I. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Jakarta. 2001. 7-8.
14. Rose N. *Principles of Immunology*, Macmillan Publishing CO, New York. 1973.124-125.
15. Wahab S., Julia M. *Sistem Imun, Imunisasi, dan Penyakit Imun*. Widya Medika. Jakarta. 2002.17.
16. Clancy J. *Basic Concepts in Immunology*, McGraw-Hill Companies, Singapore. 2000.19, 20, 26.
17. Kimbal J.W. *Introduction to Immunology*, second edition, Macmillan Publishing Company, New York. 1986. 96, 98.
18. Malole MBM, & Pramono CSU. *Penggunaan hewan – hewan percobaan di laboratorium*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antara, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 1989.65 –66
19. Sastrosupad A. *Rancangan Percobaan Praktis untuk Bidang Pertanian*. Cetakan Pertama. Yogyakarta. Kanisius. 1995
20. Maskoeri J., *Zoologi Vertebrata*. CV. Sinar Jaya. Surabaya. 1995
21. List P.H., Schmidt P.C. *Phytopharmaceutical Technology*. Institute for Pharmaceutical Technology, University of Marburg, Germany. CRC Press. 1989. 3-9
22. Wijayakusuma H. *Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia: Rempah, Rimpang, dan Umbi*. Milenia Populer. Jakarta. 2001. 103-104
23. Park S, Lee DK, Whang YH, Yang CH. *Momordin I, a compound of *ampelopsis radix*, inhibits AP-1 activation induced by phorbol ester*. *Cancer Lett.*;152(1). South Korea. 2000. 1-8

LAMPIRAN I

Skema Kerja Efek Jus Daun Pare (*Momordica charantia*) Terhadap Aktivitas IgM dan IgG Mencit Jantan (*Mus musculus*)

LAMPIRAN II

1. ANALISIS STATISTIKA RASIO AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN M (IgM) SETELAH PEMBERIAN JUS DAUN PARE DENGAN MENGGUNAKAN RANCANGAN ACAK LENGKAP (RAL) DAN UJI NYATA JARAK DUNCAN (BNJD)

Tabel 3. Data Titer imunoglobulin M (IgM) Setelah Ditransformasi Dengan : $2 \log(\text{titer}) + 1$

Perlakuan Replikasi	Jus daun pare (b/v)					Kontrol
	2,5%	5%	10%	20%	40%	Air suling
1	2,01	0,81	2,61	2,61	1,41	0,20
2	1,41	2,01	2,01	3,21	2,01	0,20
3	1,41	2,01	2,61	2,61	2,61	0,81
Jumlah	4,83	4,83	7,23	8,43	6,03	1,21
Rata-rata	1,61	1,61	2,41	2,81	2,01	0,40

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. $DbT = (r.t)-1 = (3.6) - 1 = 17$
2. $DbP = t - 1 = 6 - 1 = 5$
3. $DbG = DbT - DbP = 17 - 5 = 12$

C. Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

$$FK = \frac{T_{ij}^2}{r.t} = \frac{32,57^2}{3.6} = \frac{1060,81}{18} = 58,93$$

$$\begin{aligned} 1. \text{ JKT} &= T(Y_{ij}^2) - FK \\ &= (2,01^2 + 1,41^2 + \dots + 2,61^2) - 58,93 \\ &= 70,16 - 58,93 \\ &= 11,23 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \text{ JKP} &= \frac{TP^2}{r} - FK \\ &= \frac{(4,83^2 + 4,83^2 + \dots + 1,21^2)}{3} - 58,93 \\ &= 69,32 - 58,93 \\ &= 10,39 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. \text{ JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 11,23 - 10,39 \\ &= 0,84 \end{aligned}$$

D. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

$$1. \text{ KTP} = \frac{JKP}{DbP} = \frac{10,39}{5} = 2,08$$

$$2. \text{ KTG} = \frac{JKG}{DbG} = \frac{0,84}{12} = 0,07$$

E. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$FhP = \frac{KTP}{KTG} = \frac{2,08}{0,07} = 29,71$$

A. Perhitungan Koefisien Keragaman (KK)

$$KK = \frac{\sqrt{KTG}}{\text{rata-rata}} = \frac{\sqrt{0,07}}{1,81} \times 100\% = \frac{0,26}{1,81} \times 100\% = 14,62\%$$

Tabel 4. Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Aktivitas Immunoglobulin M (IgM)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fh	Ft	
					5%	1%
Perlakuan (P)	5	10,39	2,08	29,71**	3,11	5,06
Galat (G)	12	0,85	0,07			
Total (T)	17					

Keterangan : (**) Berbeda sangat nyata $F_h > F_t$, ada pengaruh pemberian jus daun pare (*Momordica charantia* L.) terhadap peningkatan aktivitas immunoglobulin M (IgM) pada mencit jantan, maka analisis statistik dilanjutkan dengan Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND)

Analisis lanjutan dengan Uji Beda Nyata Duncan (BNJD)

$$KTG = 0,07$$

$$S_{yi} = \sqrt{\frac{KTG}{r}} = \sqrt{\frac{0,07}{3}} = 0,15$$

A	2	3	4	5	6
5%	3.08	3.23	3.33	3.36	3.4
1%	4.32	4.55	4.68	4.76	4.84
JNT 5%	0.47	0.49	0.51	0.51	0.52
JNT 1%	0.66	0.69	0.71	0.72	0.73

- Untuk jarak nyata 2

$$\begin{aligned} JNT_{5\%} &= JN_{5\%} \cdot S_{yi} \\ &= 3,08 \cdot 0,15 = 0,47 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JNT_{1\%} &= JN_{1\%} \cdot S_{yi} \\ &= 4,32 \cdot 0,15 = 0,66 \end{aligned}$$

- Untuk jarak nyata 3

$$\begin{aligned} JNT_{5\%} &= JN_{5\%} \cdot S_{yi} \\ &= 3,23 \cdot 0,15 = 0,49 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{1\%} &= \text{JN}_{1\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 4,55 \cdot 0,15 = 0,69 \end{aligned}$$

- Untuk jarak nyata 4

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{5\%} &= \text{JN}_{5\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 3,33 \cdot 0,15 = 0,51 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{1\%} &= \text{JN}_{1\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 4,68 \cdot 0,15 = 0,71 \end{aligned}$$

- Untuk jarak nyata 5

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{5\%} &= \text{JN}_{5\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 3,36 \cdot 0,15 = 0,51 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{1\%} &= \text{JN}_{1\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 4,76 \cdot 0,15 = 0,72 \end{aligned}$$

- Untuk jarak nyata 6

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{5\%} &= \text{JN}_{5\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 3,40 \cdot 0,15 = 0,52 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{1\%} &= \text{JN}_{1\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 4,84 \cdot 0,15 = 0,73 \end{aligned}$$

Perlakuan	A	B	C	D	E	F
Rata-rata	0.4	1.61	1,61	2.41	2.81	2.01

Keterangan : A = kontrol negatif

B = diberi jus daun pare 2,5 %

C = diberi jus daun pare 5 %

D = diberi jus daun pare 10%

E = diberi jus daun pare 20 %

F = diberi jus daun pare 40 %

Tabel 5. Hasil Analisis lanjutan dengan Uji Beda Nyata Duncan (BNJD)
Perbandingan antar perlakuan

Perlakuan	Selisih	JNT		Keterangan
		P = 0,05	P = 0,01	
A-B	1,2	0,47	0,66	SS
A-C	1,2	0,49	0,69	SS
A-D	2,01	0,51	0,71	SS
A-E	2,41	0,51	0,72	SS
A-F	1,61	0,52	0,73	SS
B-C	0	0,47	0,66	TS
B-D	0,8	0,49	0,69	SS
B-E	1,2	0,51	0,71	SS
B-F	0,4	0,51	0,72	TS
C-D	0,8	0,47	0,66	SS
C-E	1,2	0,49	0,69	SS
C-F	0,4	0,51	0,71	SS
D-E	0,4	0,47	0,66	S
D-F	0,4	0,49	0,69	S
E-F	0,8	0,47	0,66	SS

Keterangan :

S : Signifikan

SS : Sangat signifikan

TS : Tidak signifikan

2. ANALISIS STATISTIKA RASIO AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G (IgG) SETELAH PEMBERIAN JUS DAUN PARE DENGAN MENGGUNAKAN RANCANGAN ACAK LENGKAP (RAL) DAN UJI NYATA JARAK DUNCAN (BNJD)

Tabel 6. Data Titer imunoglobulin G (IgG) Setelah Ditransformasi
Dengan : $2 \log(\text{titer}) + 1$

Perlakuan Replikasi	Jus daun pare (b/v)					Kontrol Air suling
	2,5%	5%	10%	20%	40%	
1	0,81	0,81	2,01	1,41	2,01	0,20
2	1,41	2,01	2,01	3,82	2,61	0,81
3	1,41	1,41	2,61	2,61	2,61	0,81
Jumlah	3,62	4,22	6,63	7,84	7,23	1,82
Rata-rata	1,21	1,41	2,21	2,61	2,41	0,61

Analisis Sidik Ragam (ASR)

C. 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)

D. Perhitungan Derajat Bebas (Db)

4. $DbT = (r.t)-1 = (3.6) - 1 = 17$
5. $DbP = t - 1 = 6 - 1 = 5$
6. $DbG = DbT - DbP = 17 - 5 = 12$

C. Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

$$FK = \frac{T_{ij}^2}{r.t} = \frac{31,36^2}{3.6} = \frac{983,45}{18} = 54,64$$

1. $JKT = T(Y_{ij}^2) - FK$
 $= (0,81^2 + 1,41^2 + \dots + 0,81^2) - 54,64$
 $= 68,58 - 54,64$
 $= 13,94$
2. $JKP = \frac{TP^2}{r} - FK$
 $= \frac{(3,62^2 + 4,22^2 + \dots + 1,81^2)}{3} - 54,64$
 $= 63,99 - 54,64$
 $= 9,35$
3. $JKG = JKT - JKP$
 $= 13,94 - 9,35$
 $= 4,59$

D. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

$$3. \text{KTP} = \frac{JKP}{DbP} = \frac{9,35}{5} = 1,87$$

$$4. \text{KTG} = \frac{JKG}{DbG} = \frac{4,59}{12} = 0,38$$

E. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$\text{FhP} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTG}} = \frac{1,87}{0,38} = 4,92$$

B. Perhitungan Koefisien Keragaman (KK)

$$\text{KK} = \frac{\sqrt{\text{KTG}}}{\text{rata-rata}} = \frac{\sqrt{0,38}}{1,74} \times 100\% = \frac{0,62}{1,74} \times 100\% = 35,63\%$$

Tabel 7. Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Aktivitas Imunoglobulin G (IgG)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fh	Ft	
					5%	1%
Perlakuan (P)	5	9,35	1,87	4,92*	3,11	5,06
Galat (G)	12	4,59	0,38			
Total (T)	17					

Keterangan : (**) Berbeda nyata $F_h > F_t$ ($p > 0,05$), ada pengaruh pemberian jus daun pare (*Momordica charantia* L.) terhadap peningkatan aktivitas imunoglobulin G (IgG) pada mencit jantan, maka analisis statistik dilanjutkan dengan Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND)

Analisis lanjutan dengan Uji Beda Nyata Duncan (BNJD)

$$\text{KTG} = 0,38$$

$$\text{Syi} = \sqrt{\frac{\text{KTG}}{r}} = \sqrt{\frac{0,38}{3}} = 0,35$$

A	2	3	4	5	6
5%	3.08	3.23	3.33	3.36	3.40
1%	4.32	4.55	4.68	4.76	4.84
JNT 5%	1.10	1.15	1.19	1.20	1.21
JNT 1%	1.54	1.62	1.67	1.69	1.69

- Untuk jarak nyata 2

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{5\%} &= \text{JN}_{5\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 3,08 \cdot 0,35 = 1,10 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{1\%} &= \text{JN}_{1\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 4,32 \cdot 0,35 = 1,54 \end{aligned}$$

- Untuk jarak nyata 3

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{5\%} &= \text{JN}_{5\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 3,23 \cdot 0,35 = 1,15 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{1\%} &= \text{JN}_{1\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 4,55 \cdot 0,35 = 1,62 \end{aligned}$$

- Untuk jarak nyata 4

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{5\%} &= \text{JN}_{5\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 3,33 \cdot 0,35 = 1,19 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{1\%} &= \text{JN}_{1\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 4,68 \cdot 0,35 = 1,67 \end{aligned}$$

- Untuk jarak nyata 5

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{5\%} &= \text{JN}_{5\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 3,36 \cdot 0,35 = 1,20 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{1\%} &= \text{JN}_{1\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 4,76 \cdot 0,35 = 1,69 \end{aligned}$$

- Untuk jarak nyata 6

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{5\%} &= \text{JN}_{5\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 3,40 \cdot 0,35 = 1,21 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JNT}_{1\%} &= \text{JN}_{1\%} \cdot \text{Syi} \\ &= 4,84 \cdot 0,35 = 1,69 \end{aligned}$$

Perlakuan	A	B	C	D	E	F
Rata-rata	0,61	1,21	1,41	2,21	2,61	2,41

Keterangan : A = kontrol negatif

B = diberi jus daun pare 2,5 %

C = diberi jus daun pare 5 %

D = diberi jus daun pare 10%

E = diberi jus daun pare 20 %

F = diberi jus daun pare 40 %

Tabel 8. Hasil Analisis lanjutan dengan Uji Beda Nyata Duncan (BNJD)
Perbandingan antar perlakuan

Perlakuan	Selisih	JNT		Keterangan
		P = 0,05	P = 0,01	
A-B	0,6	1,10	1,54	TS
A-C	0,8	1,15	1,62	TS
A-D	1,6	1,19	1,67	S
A-E	2	1,20	1,69	SS
A-F	1,8	1,21	1,69	SS
B-C	0,2	1,10	1,54	TS
B-D	1	1,15	1,62	TS
B-E	1,4	1,19	1,67	S
B-F	1,2	1,20	1,69	S
C-D	0,8	1,10	1,54	TS
C-E	1,2	1,15	1,62	S
C-F	1	1,20	1,69	TS
D-E	0,4	1,10	1,54	TS
D-F	0,2	1,15	1,62	TS
E-F	0,2	1,10	1,54	TS

Keterangan :

S : Signifikan

SS : Sangat signifikan

TS : Tidak signifikan

3. ANALISIS STATISTIKA RASIO AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN M (IgM) TERHADAP BOBOT BADAN MENCIT DENGAN MENGGUNAKAN RANCANGAN ACAK LENGKAP (RAL) DAN UJI NYATA JARAK DUNCAN (BNJD)

Tabel 9. Data Bobot Badan Mencit yang digunakan dalam pengamatan aktivitas Imunoglobulin M (IgM)

Perlakuan Replikasi	Kelompok hewan coba					Kontrol
	2,5%	5%	10%	20%	40%	Air suling
1	21	25	23	30	27	20
2	22	21	28	24	23	24
3	21	24	25	21	26	25
Jumlah	64	70	76	75	76	69
Rata-rata	21,3	23,3	25,3	25	25,3	23

Analisis Sidik Ragam (ASR)

E. 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)

F. Perhitungan Derajat Bebas (Db)

$$7. \text{ DbT} = (r.t)-1 = (3.6) - 1 = 17$$

$$8. \text{ DbP} = t - 1 = 6 - 1 = 5$$

$$9. \text{ DbG} = \text{DbT} - \text{DbP} = 17 - 5 = 12$$

C. Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

$$\text{FK} = \frac{T_{ij}^2}{r.t} = \frac{430^2}{3.6} = \frac{184900}{18} = 10272,22$$

1. $JKT = T(Y_{ij}^2) - FK$
 $= (21^2 + 22^2 + \dots + 25^2) - 10272,22$
 $= 10398 - 10272,22$
 $= 125,78$
2. $JKP = \frac{TP^2}{r} - FK$
 $= \frac{(64^2 + 70^2 + \dots + 69^2)}{3} - 10272,22$
 $= 10311,33 - 10272,22$
 $= 39,11$
3. $JKG = JKT - JKP$
 $= 125,78 - 39,11$
 $= 86,67$

D. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

5. $KTP = \frac{JKP}{DbP} = \frac{39,11}{5} = 7,82$
6. $KTG = \frac{JKG}{DbG} = \frac{86,67}{12} = 7,22$

E. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$FhP = \frac{KTP}{KTG} = \frac{7,82}{7,22} = 1,08$$

C. Perhitungan Koefisien Keragaman (KK)

$$KK = \frac{\sqrt{KTG}}{\text{rata-rata}} = \frac{\sqrt{7,22}}{23,89} \times 100\% = \frac{2,68}{23,89} \times 100\% = 11,21\%$$

Tabel 10. Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Bobot Badan Terhadap Aktivitas Immunoglobulin M (IgM)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fh	Ft	
					5%	1%
Perlakuan (P)	5	39,11	7,82	1,08	3,11	5,06
Galat (G)	12	86,67	7,22			
Total (T)	17					

Keterangan : Tidak berbeda nyata $F_h < F_t$, tidak ada pengaruh bobot badan terhadap peningkatan aktivitas immunoglobulin M (IgM) pada mencit jantan.

4. ANALISIS STATISTIKA RASIO AKTIVITAS IMUNOGLOBULIN G (IgG) TERHADAP BOBOT BADAN MENCIT DENGAN MENGGUNAKAN RANCANGAN ACAK LENGKAP (RAL) DAN UJI NYATA JARAK DUNCAN (BNJD)

Tabel 11. Data Bobot Badan Mencit yang digunakan dalam pengamatan aktivitas Immunoglobulin G (IgG)

Perlakuan Replikasi	Kelompok hewan coba					Kontrol
	2,5%	5%	10%	20%	40%	Air suling
1	26	23	22	30	27	24
2	25	20	27	24	23	21
3	23	26	21	21	26	26
Jumlah	74	69	70	75	76	71
Rata-rata	24,7	23	23,3	25	25,3	23,7

Analisis Sidik Ragam (ASR)

G. 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)

H. Perhitungan Derajat Bebas (Db)

$$10. DbT = (r.t) - 1 = (3.6) - 1 = 17$$

$$11. DbP = t - 1 = 6 - 1 = 5$$

$$12. DbG = DbT - DbP = 17 - 5 = 12$$

C. Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

$$FK = \frac{Tij^2}{r.t} = \frac{435^2}{3.6} = \frac{189225}{18} = 10512,50$$

$$\begin{aligned} 1. JKT &= T(Yij^2) - FK \\ &= (26^2 + 25^2 + \dots + 21^2) - 10512,50 \\ &= 10633 - 10512,50 \\ &= 120,50 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. JKP &= \frac{TP^2}{r} - FK \\ &= \frac{(74^2 + 69^2 + \dots + 71^2)}{3} - 10512,50 \\ &= 10526,33 - 10512,50 \\ &= 13,83 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. JKG &= JKT - JKP \\ &= 120,50 - 13,83 \\ &= 106,67 \end{aligned}$$

D. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

$$1. \text{KTP} = \frac{JKP}{DbP} = \frac{13,83}{5} = 2,77$$

$$2. \text{KTG} = \frac{JKG}{DbG} = \frac{106,67}{12} = 8,89$$

E. Perhitungan Distribusi F (Fh)

$$FhP = \frac{KTP}{KTG} = \frac{2,77}{8,89} = 0,31$$

D. Perhitungan Koefisien Keragaman (KK)

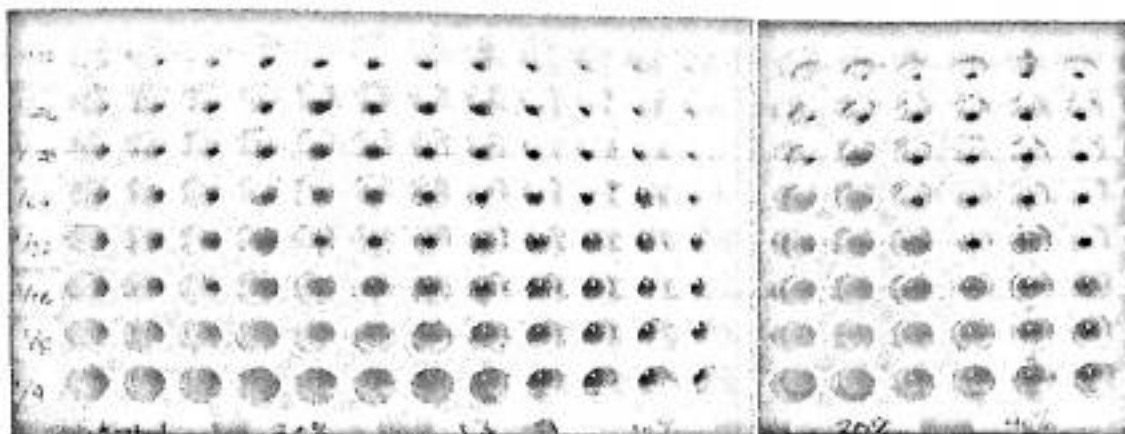
$$KK = \frac{\sqrt{KTG}}{\text{rata-rata}} = \frac{\sqrt{8,89}}{24,17} \times 100\% = \frac{2,98}{24,17} \times 100\% = 12,34\%$$

Tabel 12. Hasil Analisis Sidik Ragam (ASR) Perlakuan Terhadap Aktivitas Immunoglobulin G (IgG)

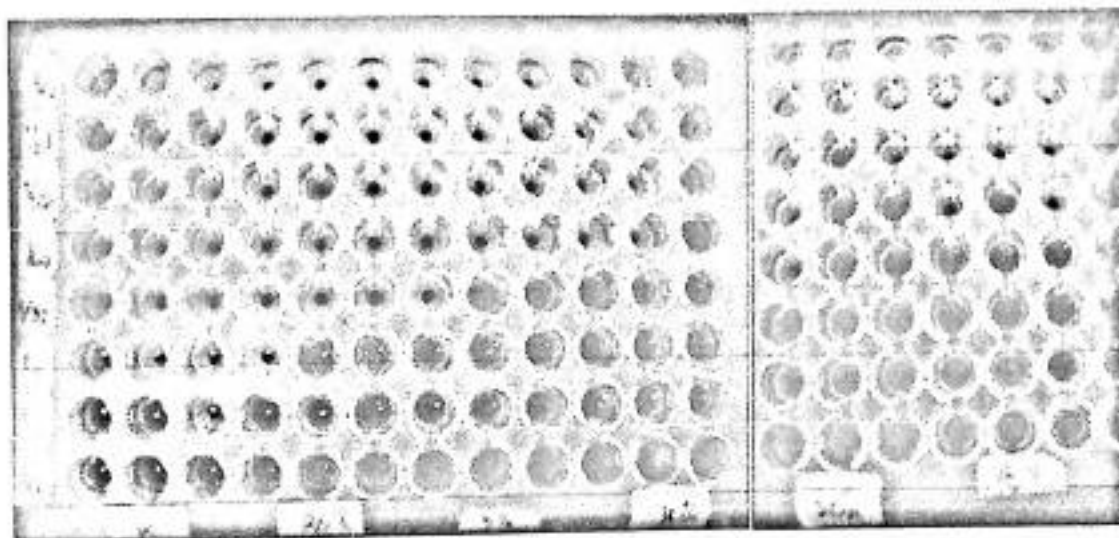
Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fh	Ft	
					5%	1%
Perlakuan (P)	5	39,11	7,82	0,31	3,11	5,06
Galat (G)	12	86,67	7,22			
Total (T)	17					

Keterangan : Tidak berbeda nyata $F_h < F_t$, tidak ada pengaruh bobot badan terhadap peningkatan aktivitas imunoglobulin G (IgG) pada mencit jantan.

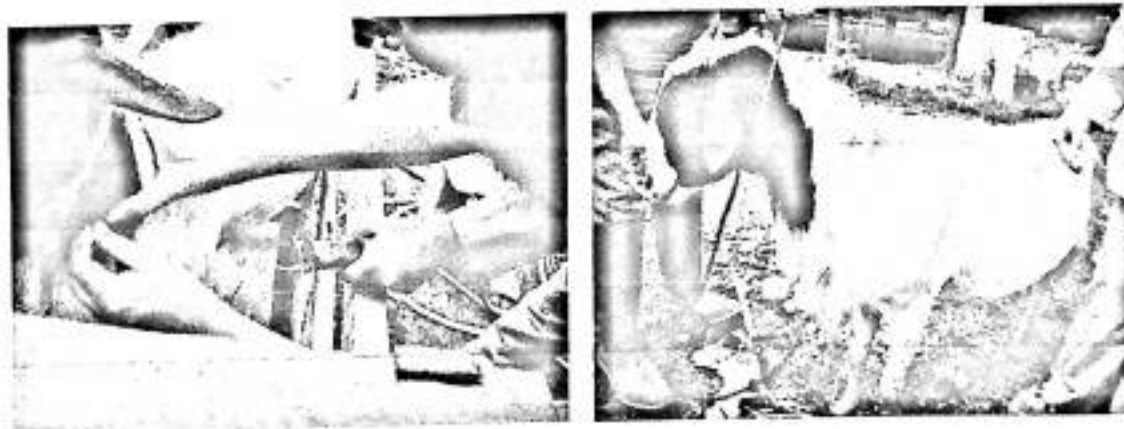
LAMPIRAN III



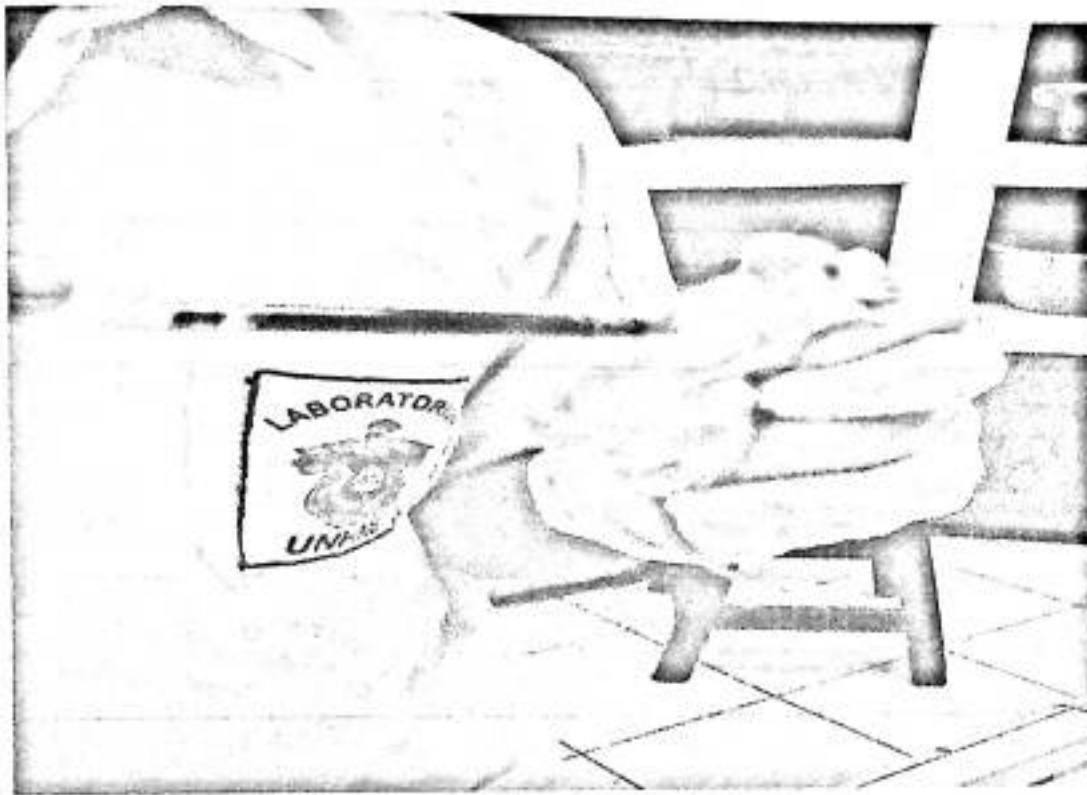
Gambar 3. Foto hasil uji hemaglutinasi pada plat mikrotiter untuk pengamatan aktivitas Immunoglobulin M (IgM)



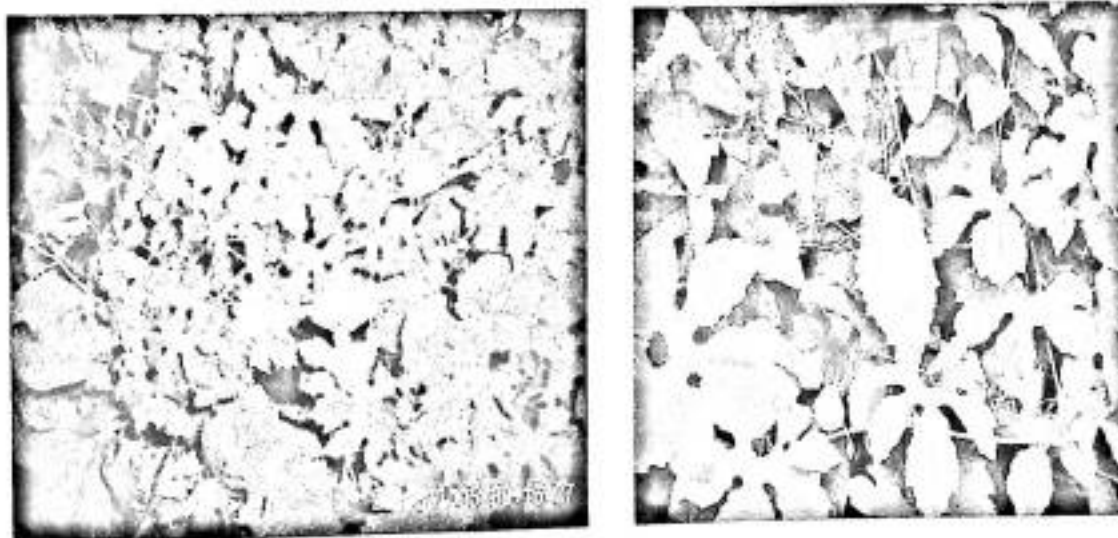
Gambar 4. Foto hasil uji hemaglutinasi pada plat mikrotiter untuk pengamatan aktivitas Immunoglobulin G (IgG)



Gambar 5. Foto Domba sumber antigen SDMD



Gambar 6. Pengambilan darah mencit secara intrakardiak



Gambar 7. Foto sampel Daun Pare (*Momordica charantia* L.)